RIVISTA

DI

PARASSITOLOGIA

[FONDATA DA A. MISSIROLI

CON LA COLLABORAZIONE DI

A. ALESSANDRINI
K. R. S. ASCHER
E. BIOCCA
B. BORGHI
G. BUONOMINI
G. CARONIA
V. CILLI
A. CORRADETTI
G. COTRONEI
E. CUBONI
G. D'ALESSANDRO
U. D'ANCONA
D. DE BLASI
A. GHIGI
A. GOIDANICH
G. GRAMICCIA
G. GRANDI
G. IZAR
I. JACONO
C. JUCCI
L. LA FACE
E. LAGRANGE
A. LANFRANCHI
Z. H. LEVINSON
G. MAZZETTI
A. PALOMBI
D. PELLEGRINI
U. PIERANTONI
V. PUNTONI
C. RAGAZZI
P. REDAELLI
P. RONDONI
G. SANGIORGI
G. SOTTI
G. VERNONI
E. ZAVATTARI

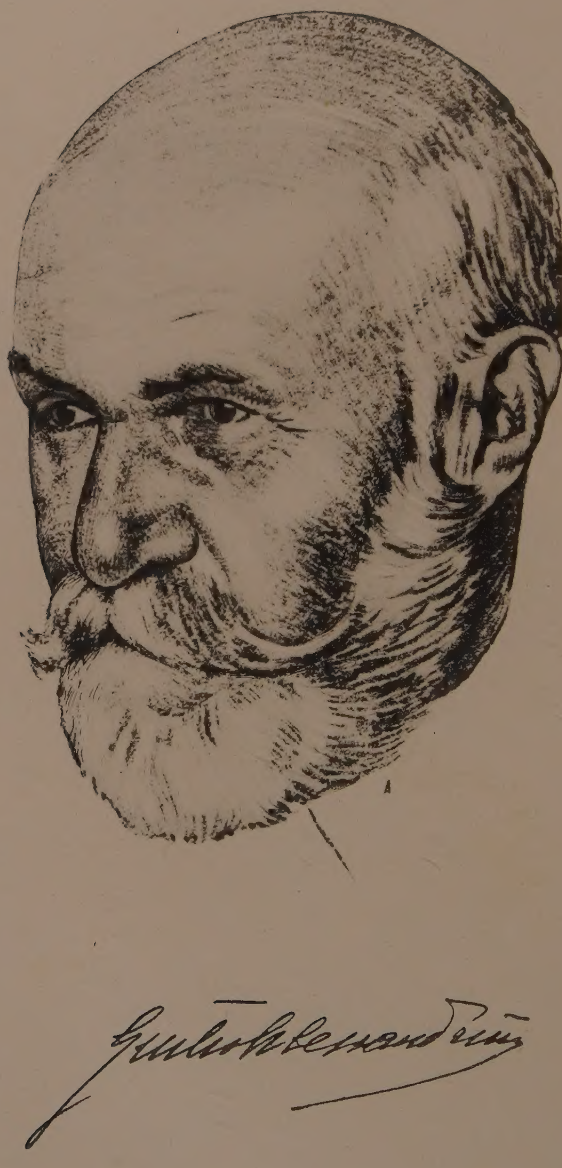
DIRETTORE: E. MOSNA

REDATTORI: M. RICCI - S. BETTINI

PUBBLICAZIONE TRIMESTRALE

REDAZIONE E AMMINISTRAZIONE

ROMA - VIA ARNO, 5 - ROMA



RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

GIULIO ALESSANDRINI

(1866 - 1954)

Il prof. GIULIO ALESSANDRINI nacque a Montalto di Castro nel 1866, compì gli studi classici presso il Collegio di S. Maria in Aquiro, si laureò in Medicina presso l'Università di Roma ed appena laureato, attratto dagli studi biologici, entrò quale assistente presso l'Istituto di Zoologia della Facoltà di Scienze dove, sotto la guida del prof. CARRUCCIO, cominciò ad occuparsi esclusivamente di Zoologia medica, come si diceva allora, o di Parassitologia come si direbbe oggi.

In Italia, gli studi parassitologici erano, alla fine del secolo passato, prerogativa individuale di pochi studiosi — anche grandissimi, come PERRONCITO e GRASSI — che compivano le loro ricerche in Istituti differentissimi non esistendo in nessuna Università italiana un Istituto ufficiale di Parassitologia.

Fu merito incontestabile di GIULIO ALESSANDRINI l'avere creato un primo centro di Parassitologia, centro che con il passare degli anni doveva evolvere in Laboratorio di Parassitologia ed infine in Istituto di Parassitologia, il primo esistente in Italia con cattedra ufficiale di ruolo.

Dopo i primi anni passati presso l'Istituto di Zoologia, il prof. ALESSANDRINI fu invitato da ANGELO CELLI ad entrare nell'Istituto d'Igiene che, ingrandendosi e perfezionandosi, voleva contare la Parassitologia tra le materie del proprio insegnamento.

E presso l'Istituto d'Igiene dell'Università di Roma GIULIO ALESSANDRINI compì gran parte della sua lunga carriera universitaria sino all'anno 1928 in cui potè, con grande sua soddisfazione, inaugurare nella città universitaria di Roma il suo Istituto di Parassitologia da anni vagheggiato.

L'opera scientifica di GIULIO ALESSANDRINI è vasta e notevole. Sin dai primi anni della sua carriera egli cominciò ad occuparsi di anchilostomiasi, tema da lui sempre preferito e che doveva portarlo a grandi successi nella profilassi contro questa malattia, successi che videro il loro coronamento nel traforo dell'Appennino, durante la costruzione della direttissima Bologna - Firenze, traforo realizzato senza che si riscontrasse tra gli operai un solo caso di

anchilostomiasi, contro le migliaia di casi e di morti riscontrati in lavori consimili, primo fra tutti nel traforo del Gottardo.

Dell'anchilostomiasi, l'ALESSANDRINI chiarì parte del ciclo evolutivo del parassita, la patogenesi dell'anemia e alcuni sintomi clinici. Egli descrisse anche numerose specie nuove di anchilostomi particolarmente degli animali domestici e selvatici; tra quest'ultime specie, una, riscontrata nell'orso, l'*A. malayanum,* fu successivamente riscontrata parassita dell'uomo.

Un altro campo in cui l'opera dell'ALESSANDRINI fu vasta e notevole fu quello della malaria: i suoi studi sull'anofelismo senza malaria, sull'evoluzione del plasmodio allo stato di trofozoite, sulla grande e piccola bonifica pongono senz'altro l'ALESSANDRINI tra i più illustri malariologi dei nostri tempi: basterebbe ricordare la bonifica delle paludi Pontine compiuta sotto la sua vigile e dotta direzione scientifica, per comprendere quale gloria imperitura arriderà al nome del nostro Scomparso.

Non possiamo qui ricordare le innumeri ricerche parassitologiche ancora compiute dal Nostro: egli non ha lasciato intentato nessun campo della Parassitologia, dai distomi alle filarie, dai piroplasmi alle mosche.

Voglio tuttavia ricordare un suo lavoro del 1912, tra i meno conosciuti: quello sul potere battericida dei vermi intestinali, « potere battericida » che oggi si chiamerebbe « potere antibiotico », lavoro che mostra l'acutezza di osservazioni del grande Scomparso che fu antesignano in molti campi.

Non mancarono in vita gli onori all'illustre Parassitologo: membro di molte Accademie, venne nominato Senatore del Regno, e chiamato spesso all'Estero come consulente soprattutto malariologo; a tale titolo fu invitato in Sud America ove svolse la Sua opera illuminata in Argentina, in Uruguai e in Paraguai.

A suo nome venne istituito un Premio di Parassitologia presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche: premio il cui capitale fu raccolto tra gl'innumeri amici, allievi ed ammiratori che il Nostro aveva in tutta l'Italia.

A noi, che avemmo la ventura di essere suoi allievi, non resta che seguirne l'esempio d'incondizionata dedizione alla Scienza, di entusiasmo per la ricerca pura, di disinteresse e onestà, augurandoci che il Premio Alessandrini di Parassitologia possa nuovamente risorgere e costituire sprone di ricerca nel campo ch'Egli prescelse, e che a Suo nome sorga un ricordo nel centro di Latina che, se oggi è città, lo deve alla Sua opera indefessa di bonificatore e di benevolo conquistatore di terre malsane.

G. PENSO

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

SULLE VARIETA' MORFOLOGICHE DI *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*

II. VARIAZIONE DEL DIAMETRO DEI CEPPI

G. BUCCO (*) e G. CHIEFFI (*)

Dalla nostra precedente nota si rileva che su un totale di 69 pazienti, cui abbiamo praticato la misurazione del diametro delle cisti e dei trofozoiti di *Entamoeba histolytica,* 26 soggetti (37,7%) presentavano cisti di diametro inferiore a 10 μ, 41 soggetti (59,4%) presentavano cisti di diametro superiore a 10 μ, 2 soggetti (2,8%) presentavano cisti di ambedue le classi.

In detta nota abbiamo discussa la questione del valore da attribuire a queste diverse classi e ci siamo riservati di riferire le nostre osservazioni sulla variabilità del diametro di questi ceppi.

Sapero e coll. (1946) affermano che non esistono possibili variazioni del diametro, almeno così ampie da consentire il passaggio da quella che essi chiamano razza piccola a quella che essi chiamano razza grande. Essi affermano che le variazioni ambientali non provocherebbero la trasformazione di una razza nell'altra nè tale trasformazione, secondo loro, sarebbe stata osservata da altri ricercatori. Una prova ritenuta convincente da Sapero (1946) è la coesistenza di ambedue le razze nel 6,3% dei suoi casi; Hakansson (1946) seguì per molti mesi vari pazienti nel manicomio di Panama, durante fasi cliniche di remissioni e di ricadute e in nessuno dei soggetti che ospitavano la forma grande comparvero cisti della forma piccola e viceversa. Sapero e coll. non escludono che piccole variazioni del diametro medio delle cisti possano apparire di tempo in tempo in coincidenza con modificazioni ambientali, ma fanno notare che queste variazioni sono sempre contenute nei limiti già notati per ogni forma piccola. Anche Smith (1919), che osservò modificazioni del dia-

---

(*) *Clinica delle malattie infettive e delle malattie tropicali della Università di Napoli* (Direttore: Prof. I. Jacono).

metro delle cisti in campioni di feci provenienti dallo stesso paziente in giorni differenti, affermò che le variazioni non furono molto notevoli. Dobell e Jepps (1918) osservarono che in certe condizioni i diametri delle cisti di un determinato ceppo si modificarono temporaneamente, notando, nel caso dei ceppi più grandi, un aumento del diametro da 12-14 a 15 μ o anche più dopo la cura; successivamente il diametro divenne di nuovo molto piccolo. Nel 1938 Frye e Meleney hanno osservato lievi modificazioni nel diametro delle cisti di un ceppo allorchè una razza piccola fu passata attraverso colture successive e attraverso animali recettivi. Le misurazioni furono da essi praticate sui trofozoiti e dimostrarono variazioni che rientravano nei limiti della forma piccola.

Mentre Sapero e coll., Smith, Meleney e Frye, Dobell e Jepps hanno osservato solo piccole variazioni, Brumpt (1926) ha notato la trasformazione della forma minuta in forma grande ematofaga nel gatto il cui ano era stato chiuso con collodion. Hegner (1935) ha osservato viceversa la forma grande ematofaga trasformarsi in quella minuta inoculandola nella scimmia.

Secondo Brumpt (1926) la composizione fisico-chimica dell'ambiente intestinale di questi animali svolgerebbe un ruolo molto importante nella trasformazione nell'una o nell'altra forma (cui, secondo lo stesso autore, sarebbe legata una diversa virulenza), in tutti i paesi, freddi o tropicali, ove sono state eseguite queste esperienze.

Più recentemente Meleney e Zuckerman (1948) hanno riferito sulle variazioni del diametro del ceppo di *E. h.* (ceppo D), isolato e coltivato nel 1938. I trofozoiti in coltura presentavano un diametro medio di circa 8,5 μ, con valori varianti da 7,0 a 13,5 μ quando erano misurati a fresco, mentre la media era di 7,5 μ con valori varianti da 5,0 a 11,0 μ dopo fissazione con liquido di Schaudinn e colorazione con ematossilina ferrica. Nell'estate del 1943 si notava che la coltura conteneva amebe che erano presenti ancora al momento della pubblicazione, cioè nel luglio del 1947. Il diametro dei trofozoiti a fresco era di circa 19,0 μ con variazioni da 8,3 a 26,0 μ. Sembra che sia da escludere, da vari elementi apportati dagli AA., la possibilità di inquinamento.

Anche Colonnello (1951) ha affermato di aver osservato nella sua esperienza due fatti: la variazione dalla forma minuta alla forma grande di un ceppo di *E. h.*, allorchè alla coltura veniva aggiunto nuovo « pabolum » o se variava il pH; però dopo aver raggiunto un acme, le amebe tendevano a ritornare alla forma minuta. L'altra osservazione riguarda il rapido passaggio, nell'intestino umano, dalla forma minuta alla forma grande ematofaga per l'instaurarsi di processi (cancri, leucemie, ecc.), che nulla avevano a che fare con l'amebiasi.

Nel corso delle nostre indagini sulla coltivabilità di *E. h.*, abbiamo insemenzato le feci dei 69 pazienti sul terreno di Balamuth e Sandza, che in base a precedenti osservazioni (Bucco e Chieffi, 1950) ci è sembrato il più soddisfacente.

Dei 41 insemenzamenti della forma grande, 31 (7,7%) riuscirono positivi; dei 26 insemenzamenti della forma piccola, 6 (23,1%) riuscirono positivi. I due insemenzamenti, in cui vi erano sia forme grandi che forme piccole, riuscirono negativi.

Abbiamo praticato numerosi passaggi in serie dei vari insemenzamenti e non ci è capitato di osservare apprezzabili variazioni del diametro del parassita coltivato. Solo in un caso, ossia un ceppo che presentava al momento dell'insemenzamento, trofozoiti di diametro variante da 7,90 a 8,70 μ e cisti di diametro variante da 6,5 a 7,10 μ presentò al 14° passaggio trofozoiti di 14-15 μ di diametro.

Ci sembra quindi che questa osservazione confermi quella di Meleney e Zuckerman (1948) e che rappresenti un elemento a favore della possibilità di variazione del diametro di un ceppo, variazione che può avvenire varcando quei limiti che Sapero e coll. (1946) ritengono la barriera di differenziazione razziale tra razza grande e razza piccola di *E. h.*

Dalle osservazioni degli autorevoli AA. che ci hanno preceduto e dal nostro modesto contributo, riteniamo di poter concludere che il diametro dei ceppi di *E. h.* non è un carattere fisso, ma può variare, sembra per l'influenza di diverse condizioni ambientali, che secondo Meleney e Zuckerman (1948), possono giocare un importante ruolo.

Non è quindi assolutamente possibile prendere in considerazione il diametro delle amebe come punto di partenza di una qualsiasi differenziazione razziale.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno coltivato le feci di 69 pazienti sul terreno di Balamuth e Sandza. Su 41 insemenzamenti della forma grande di *Entamoeba histolytica*, 31 (75,7%) riuscirono positivi; di 25 insemenzamenti della forma piccola, 6 (23,1%) riuscirono positivi; nei due casi in cui furono insemenzate sia le forme grandi sia quelle piccole, le culture riuscirono negative.

E' stato osservato un ceppo, i cui trofozoiti, al momento dell'insemenzamento, avevano un diametro variante tra 7,9 e 8.7 μ, mentre al 14° passaggio presentavano un diametro di 14-15 μ.

Gli AA. ne deducono che il diametro dei ceppi di *E. h.* è un carattere variabile e pertanto non può rappresentare carattere distintivo di una qualsiasi differenziazione razziale.

SUMMARY

The authors have cultivated the feces of 69 patients on Balamuth and Sandza's medium. On 41 samples of the large form of *Entamoeba histolytica*, 31 cultures (75,7%) were positive; on 25 samples of the small form, 6 coltures (23,1%) were positive; of two samples, containing both the large and the small amoeba, the cultures were negative.

The authors observed a strain which, when insemenced, showed trophozoites of a diameter of 7,9 - 8,7 μ and wich, at the 14th subculture, showed a noticeable variation of the diameter of the trophozoites (14-15 μ).

The authors conclude that the diameter of the strains of *E. h.* is a variable character and, therefore, it cannot be considered a distintive character for any racial differentiation.

BIBLIOGRAFIA

BRUMPT E. (1926): Infection expérimentale du chat par l'*Entamoeba coli* Loesch, 1875, Schaudinn emendavit 1903. *Ann. de Parasitol. Hum et Comp.*, *4*, 272-285

BUCCO G. e CHIEFFI G. (1950): Sui terreni di cultura dell'*Entamoeba histolytica*. *Riv. Ist. Sieroter. Ital.*, Sez. I, *25*, 229 - 236.

BUCCO G. e CHIEFFI G. (1954): Sulle varietà morfologiche di *Entamoeba histolytica* - I) Diametro delle cisti. *Riv. di Parass.*, *14*, 279-284.

COLONNELLO F. (1951): La responsabilità del medico di fronte alla diagnosi di amebiasi. *Rass. Medica*, *28*, 161 - 164.

DOBELL C. e JEPPS M. W. (1918): A study of the diverse races of *Entamoeba histolytica* distinguishable from one another by the dimensions of their cysts. *Parasitol.*, *10*, 320-350.

FRYE W. W. e MELENEY H. E. (1938): The pathogenicity of a strain of small race *Endamoeba histolytica*. *Amer Jour. Hyg.*, *27*, 580-589.

HEGNER R. (1935): Absence of tissue invasion in monkey carriers of *Endamoeba histolytica*. *Amer Jour. Trop. Medic.*, *15*, 41-43.

MELENEY H. E. e ZUCKERMAN L. K. (1948): Note on a strain of small race *Endamoeba histolytica* which became large in culture. *Amer. Jour. Hyg.*, *47*, 187-188.

SAPERO J. J., HAKANSSON E. G. e LOUTTIT C. M. (1942): The occurrence of two signficantl distinct races of *Endamoeba histolytica*. *Amer. Jour. Trop. Medic.*, *22*, 191-208.

SMITH A. M. (1919): A contribution to the question to the number of races in the species *Entamoeba histoytica*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, *13*, 1-16.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

SU UNA MIASI DEL CANE IN SOMALIA

LORENZO SOBRERO (*)

In due località della Somalia (Villaggio Duca Abruzzi e Genale) site lungo l'Uebi Scebeli abbiamo osservato nel cane una miasi cutanea da larva di *Cordylobia anthropophaga,* finora mai segnalata in Somalia.

La malattia si osserva specialmente nella stagione secca (gilal) che va dal dicembre al marzo e scompare durante la stagione delle pioggie.

I casi capitati sotto la nostra osservazione sono complessivamente sedici e riguardano cani maschi e femmine, di razze indigene e importate, di età variabile da otto mesi a otto anni. La malattia è stata riscontrata quasi sempre in animali posti a guardia di abitazioni in legno costruite su pilastri e quindi sollevate da terra.

Secondo le nostre osservazioni è proprio nello spazio compreso tra la base della baracca e il suolo — luogo preferito dai cani per l'ombra e il fresco — che avviene l'infestazione in quanto la mosca depone le uova nel terreno al riparo dal sole. Mai ci è occorso di osservare le miasi nei cani di proprietari abitanti in case in muratura costruite con normali fondamenta.

La malattia si manifesta con noduli rotondeggianti, cupolari, duri, ben circoscritti, a lunga base di impianto, di diametro fino a 1 cm., localizzati in diverse parti del corpo. Le regioni più frequentemente colpite sono: la sopraorbitale (margine basale superiore della palpebra), il margine laterale e facciale del padiglione dell'orecchio, le guance, le labbra, il canale delle ganascie, la parte inferiore del collo, la regione sternale, i lati del torace, la parte ventro-laterale dell'addome, la regione inguino-addominale (specialmente lo scroto), la regione ischiatrica, gli arti in tutta la loro estensione.

I noduli contengono una larva ospite del sottocute e sono più o meno prominenti in dipendenza del grado di sviluppo della larva stessa e la loro visibilità dipende dalla larghezza o foltezza del pelo dell'animale colpito.

(*) *Istituto Sierovaccinogeno Merca (Somalia)* (*Direttore*: Dr. Congiu).

La sommità della formazione nodulare mostra un'apertura di 1-2 mm. di diametro dalla quale si può scorgere, esercitando una modica pressione sulla parete, la parte caudale della larva.

Gli animali colpiti reagiscono in modo diverso in dipendenza della sensibilità individuale: alcuni sopportano la parassitosi quasi indifferentemente limitandosi a lambire la parte colpita, viceversa altri guaiscono ad intervalli, sono inquieti, cambiano frequentemente di posto. Se le larve sono localizzate nella regione plantare o interdigitale i cani zoppicano. In tutti i casi, tardando o trascurando l'intervento curativo, gli animali dimagriscono e assumono l'aspetto sofferente.

Dopo la spontanea fuoriuscita delle larve dai noduli, rimane una cavità che diviene granuleggiante e in genere guarisce spontaneamente, ma in alcuni

Fig. 1 - Larva matura di *Cordylobia anthropophaga*.

casi abbiamo osservato invece complicazioni settiche (ad esempio in un cane abbiamo visto fistolizzarsi lo scroto, in un'altro prodursi ulcerazioni al padiglione dell'orecchio).

La larva appena espulsa dall'ospite è di color bianco-perlaceo trasparente, fusiforme, con l'estremità posteriore rotondeggiante e quella anteriore più assottigliata e munita di due uncini, ha una lunghezza di cm. 1,5 e una larghezza massima di circa mm. 3, segmentata con un numero di 9 anelli corporali, un anello terminale orale e un anello terminale caudale (fig. 1).

La larva posta nella sabbia umida e nella terra vi penetra rapidamente e dopo 24-48 ore comincia ad imbrunirsi trasformandosi in pupa che assume un colorito caffè-tostato.

Fig. 2 - *Cordylobia anthropophaga* ♀.

Dopo 19 giorni in media, secondo le nostre esperienze, dalla pupa si schiude l'insetto adulto. La mosca è lunga circa cm. 1, il corpo è grigio-giallastro, con due strie longitudinali sulla parte dorsale del torace e con macchie oscure sulla

parte posteriore dell'addome, ali trasparenti leggermente imbrunite, zampe giallastre, testa e antenne di colore giallastro.

Per le caratteristiche morfologiche, per la specie ospite, per l'habitat e per la zona geografica di diffusione, noi abbiamo identificato il parassita come *Cordylobia anthropophaga* (*).

Questa mosca è una specie africana riscontrata la prima volta nel Senegal (« ver de Cayor ») ed è diffusa nell'Africa occidentale, equatoriale e australe.

Colpisce l'uomo e diversi animali domestici (cane, gatto, capra, dromedario, cavallo) e selvatici (sciacallo, antilopi, scimmie).

La dermatite foruncolosa che la *Cordylobia anthropophaga* provoca va compresa fra le miasi statiche in quanto il parassita produce una lesione localizzata al punto di penetrazione nell'ospite, in contrapposto alle miasi erranti, tipo ipodermosi bovine, nelle quali la larva ha una fase invasiva prima di localizzarsi nel sottocute.

Differisce dall'*Hypoderma bovis* anche perchè essa non depone le uova sul corpo dell'animale ospite, ma sul suolo. Le larve di 1° stadio appena fuoriuscite dalle uova si muovono sul terreno sino a quando, incontrato l'ospite specifico, penetrano nella cute integra e vanno a localizzarsi nel sottocute ove danno luogo molto rapidamente allo sviluppo di lesioni nodulari.

Abbiamo osservato cani normali ricoprirsi di noduli di varia grandezza nel giro di uno o due giorni.

Che la mosca deponga le uova sul terreno e non direttamente sull'ospite è confermato dalla localizzazione delle lesioni nell'ospite che come abbiamo visto si riscontrano in quelle parti del corpo che per naturali atteggiamenti e posizioni del cane vengono a contatto col suolo e quindi più facilmente aggredibili dalle larve e al contrario mai le abbiamo osservate sulle regioni dorsali della testa, collo e tronco.

Per la terapia noi ci siamo attenuti alla eliminazione manuale delle larve e al trattamento successivo della lesioni con prodotti a base di cloro che alla notevole azione disinfettante uniscono le proprietà deodoranti, particolarmente utili per eliminare l'odore ripugnante che segue alla fuoriuscita del parassita. Un'efficace profilassi l'abbiamo ottenuta col bagno degli animali in soluzione acquosa di gammesano e colla disinfestazione dell'ambiente infetto con lo stesso prodotto.

Questa prima segnalazione sulla miasi da noi riscontrata in Somalia riveste un particolare interesse perchè la *Cordylobia anthropophaga* infesta tanto l'uomo che gli animali.

Pur non avendo fatto particolari indagini nel campo umano, segnaliamo

---

(*) Il Prof. Saccà dell'Istituto Superiore di Sanità, che ha esaminato il nostro materiale, ha confermato la diagnosi specifica. Porgiamo al Prof. Saccà i nostri più vivi ringraziamenti.

tuttavia un caso capitato sotto la nostra osservazione nella zona di Genale. Si tratta del concessionario signor G. Buttazzi che è stato colpito da una forma di miasi cutanea al dorso risoltasi favorevolmente in pochi giorni dopo l'espulsione delle larve, ma con notevoli residui cicatriziali nella regione colpita. Il paziente si è infestato mentre lavorava a dorso nudo sotto un capannone per riparare una macchina agricola. La localizzazione al dorso è molto comprensibile quando si pensi alla posizione supina che sono costretti ad assumere i meccanici quando lavorano per riparare guasti nelle parti inferiori delle macchine.

Non avendo potuto raccogliere larve da questo caso umano, non possiamo sicuramente affermare che anche questa forma fosse sostenuta dalla *Cordylobia anthropophaga*, ma considerando la modalità dell'infestazione e il fatto che nello stesso luogo si erano manifestati casi di miasi canina abbiamo ragione di supporre la stessa natura eziologica.

Oltre che nel cane e nell'uomo questa infezione l'abbiamo riscontrata anche in una scimmia tenuta in captività (presso un reparto di truppa) al Villaggio Duca degli Abruzzi, nella stessa località cioè dove più di frequente abbiamo riscontrato la miasi canina. L'animale era tenuto legato alla catena vicino alla riva del fiume sotto una folta vegetazione. L'animale presentava due nodosità in corrispondenza della base della coda, che colla solita manualità, vennero liberate dalla larva.

Circa l'area di diffusione in Somalia di questa forma parassitaria non abbiamo elementi per determinarla, neppure approssimativamente, ma abbiamo ragione di ritenere che sia presente almeno lungo tutto il corso dell'Uebi-Scebeli.

RIASSUNTO

L'autore segnala la presenza in Somalia di una miasi cutanea del cane, sostenuta dalla larva di un dittero (*Cordylobia anthropophaga*) e ne descrive i caratteri eziopatologici, accennando alcune misure di profilassi e terapia.

Rileva che la stessa parassitosi può colpire pure l'uomo e la scimmia.

SUMMARY

The A. reveals the presence in Somalia of a myiasis of the skin in the dog, originated by the larva of a dipteral insect (*Cordylobia anthropophaga*) and describes its eziopathologic and symptomatological characters, mentioning several prophylactic and therapeutic measures.

He remarks that the same parasitosis can affect also humans and monkeys.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

AZIONE TOSSICA DEGLI ACIDI IODO- E CLOROACETICO SUGLI INSETTI. INIBIZIONE DELLA TRIOSOFOSFATO DEIDROGENASI. (*)

S. BETTINI (**) e M. BOCCACCI (**)

Studiando l'azione sugli insetti di alcune sostanze alchilanti alogenate notammo che tali sostanze possiedono notevole azione insetticida per contatto. Il gruppo di sostanze sperimentate comprende gli acidi iodo— e cloroacetico ed alcuni loro esteri (1).

Come dimostrato da MICHAELIS e SCHUBERT (1), in condizioni fisiologiche, l'acido iodoacetico reagisce con i gruppi tiolici e non con i gruppi amminici o idrossilici. Difatti nei vertebrati l'azione tossica dell'acido iodoacetico è dovuta all'inibizione degli enzimi-SH (3, 4, 5) e principalmente della triosofosfatodeidrogenasi (TPD). L'inibizione della TPD provoca paralisi in contrattura dei muscoli, dovuta al mancato apporto di ATP (6, 7). La contrattura muscolare dovuta all'azione di alcuni alchilanti alogenati, tra cui l'acido bromoacetico, è stata anche dimostrata da GODEAUX (8) sugli invertebrati.

Come da noi dimostrato, (1) quasi tutto lo iodio penetrato per contatto nell'insetto sotto forma di acido iodoacetico si ritrova come ioduro; è logico supporre una reazione del tipo

$$R.SH + ICH_2.COOH = R.S.CH_2.COOH + HI$$

SELIGMAN e RUTENBURG (9) avevano notato che l'acido iodoacetico non inibiva sensibilmente la succinodeidrogenasi dei muscoli dei vertebrati.

Per quanto riguarda gli insetti, come da noi dimostrato, (10) l'acido iodoacetico non ha sensibile azione inibente sulla succinodeidrogenasi del muscolo di *Periplaneta americana*, nè in vitro nè in vivo.

Nel presente lavoro riportiamo i risultati ottenuti studiando negli insetti l'azione degli acidi iodo— e cloroacetico sulla TPD.

(*) *Il presente lavoro rientra nel piano di ricerche sulla mosca domestica concordato fra la Fondazione Rockefeller e l'Istituto Superiore di Sanità.*

(**) *Istituto Superiore di Sanità.*

Per il dosaggio della TPD, i metodi attualmente in uso sono quelli manometrici di Meyerhof e Ohlmeyer (11) e di Quastle e Wheatley (12) quello spettrofotometrico di Drabkin e Meyerhof (13) oltre al classico metodo generale di Thunberg, di più semplice esecuzione.

Ci siamo serviti di un metodo colorimetrico ancora più semplice, usando il 2,6 diclorofenolindofenolo come accettore d'idrogeno, in luogo del bleu di metilene. Tale metodo ha il vantaggio di non richiedere l'uso di tubi speciali da vuoto poichè la forma ridotta del 2,6 diclorofenolindofenolo si riossida solo lentamente all'aria. Si può quindi far avvenire la reazione direttamente nei tubi del colorimetro di cui si dispone.

Come materiale da esperimento abbiamo usato *Periplaneta americana* e *Musca domestica*. Della *M. domestica* si sono scelti due ceppi, uno sensibile e l'altro resistente ai « clorurati ». (*)

Essi sono stati paragonati, sia per l'attività TPDasica dei loro estratti, che per la suscettibilità agli alchilanti alogenati.

Per il ceppo resistente sono state confrontate le curve di abbattimento e le curve di inibizione della TPD a varie concentrazioni di acido cloroacetico per contatto.

Ambedue i ceppi sono stati selezionati al fine di ottenere una diminuzione della loro suscettibilità verso l'acido cloroacetico per contatto. La selezione è stata effettuata anche su un ceppo resistente ai « clorurati » per determinare se fosse possibile ottenere un maggior grado di resistenza verso gli alchilanti alogenati, in un numero di generazioni minore in un ceppo resistente, che non in un ceppo sensibile.

Parte sperimentale

Materiale biologico

Ci siamo serviti del seguente materiale:

Periplaneta americana, allevamento di laboratorio.

Musca domestica dei seguenti ceppi:

1) Ceppo sensibile proveniente da Roma (S-Roma), allevato in laboratorio.

2) Ceppo poliresistente, proveniente dalla Sardegna (R-Sardegna), allevato in laboratorio e selezionato periodicamente verso il chlordane. Risulta altamente resistente al chlordane e notevolmente resistente al DDT ed analoghi, ed al lindano.

(*) Si intende qui per « clorurati » quegli insetticidi, contenenti cloro nella loro molecola, rappresentati da: DDT ed analoghi, chlordane ed analoghi, lindano.

METODO DI DOSAGGIO DELLA TRIOSOFOSFATODEIDROGENASI

Prodotti usati — Cozimasi (DPN) pura al 75% della Ditta Schwarz. Fruttosio-1,6-difosfato (HDP) di buona purezza (90%) sotto forma di sale di bario, della Ditta Schwarz. Le soluzioni del sale sodico si preparano eliminando il bario con Na_2SO_4 ed aggiustando quindi il pH con idrato sodico (pH 6,5 per estratti di *P. americana* e pH 5,9 per quelli di *M. domestica*).

Tutti gli altri prodotti usati sono quelli puri per analisi forniti da Ditte italiane.

Preparazione degli estratti — Nella preparazione degli estratti si è seguito un procedimento simile a quello usato da CORI e coll. (14) per la preparazione di TPD pura cristallina dal muscolo di vertebrati.

Per preparare gli estratti di tessuto muscolare di *P. americana* vengono prelevate agli insetti, sotto anestesia, le zampe metatoraciche tagliandole a livello del trocantino ed eliminando il femore e gli altri segmenti distali. Il materiale così ottenuto, costituito dalle sole coxe, viene posto a 0° subito dopo il prelievo. Tutte le successive operazioni vanno compiute alla temperatura di 0°. E' bene non far trascorrere molto tempo dal momento del prelievo al momento della preparazione degli estratti.

Si triturano 1 g di coxe (la quasi totalità del peso è costituita da tessuto muscolare) in un piccolo mortaio di vetro, con poca sabbia di quarzo, dopo aggiunta di 2 cm^3 di NaOH 0,02 N. Quando il materiale risulta ben triturato si aggiunge 1 cm^3 di acqua, si mescola bene col pestello e si lascia a se per 20-30 minuti.

Trascorso tale periodo, l'estratto viene centrifugato per 20 minuti alla velocità di 16.000 giri al minuto. Il centrifugato limpido, viene prelevato e conservato a 0° sino al momento del dosaggio.

Gli estratti così preparati, tenuti a 0° conservano intatta solo per qualche ora la loro attività TPDasica; in 24 hr. si ha una diminuzione di attività del 40% circa. A temperatura ambiente si ha una rapida perdita della attività.

Per la preparazione degli estratti di tessuto muscolare di *M. domestica*, le mosche vengono anestetizzate per raffreddamento a 0° e quindi private della testa e dell'addome. Il torace così ottenuto, è costituito principalmente (90%) da tessuto muscolare, come indicato da BALDWIN e NEEDHAM (15) per *Lucilia* e *Calliphora* sp.

Partendo da una quantità di toraci pari ad 1 g (circa 100 individui) si prepara l'estratto seguendo le modalità già indicate per *P. americana*.

Nella maggior parte degli esperimenti si sono usati estratti di mosche intere, variando i volumi dei liquidi di estrazione.

Si triturano 1 g di mosche intere nel mortaio con poca sabbia di quarzo dopo aggiunta di 1,6 cm^3 di NaOH 0,02 N. Si aggiungono quindi 0,8 cm^3 di acqua, si mescola bene e si lascia a se per 20-30 minuti. Si centrifuga poi per

20 minuti a 16.000 giri al minuto. L'estratto così ottenuto ha una attività TPDasica pressochè eguale a quella degli estratti di soli toraci di mosche e di zampe di *P. americana* come risulta dalla Tab. 1.

TABELLA 1.

Attività TPDasica di estratti di tessuto muscolare di P. americana *e di* M. domestica, *e di estratti di* M. domestica *in toto.*

Specie	Materiale	Attività enzimatica (valori arbitrari)
P. americana	estratti preparati dalle coxe	12,7
M. domestica	estratti preparati da soli toraci	12,0
„ „	estratti preparati da mosche intere	12,2

Conservazione del tessuto muscolare a —30°C — Mentre gli estratti preparati come descritto e tenuti a 0°, conservano la loro attività per qualche ora, si è notato che il tessuto muscolare tenuto a —30°, conserva intatta la sua attività TPDasica anche per parecchie settimane.

Attività aldolasica degli estratti — Per la determinazione della attività aldolasica si è seguito il metodo usato da BRUNS, (16) per la determinazione della aldolasi del siero.

Gli estratti preparati come già descritto hanno una marcata attività aldolasica. Per gli estratti di mosche in toto, con 0,05 cm³ di estratto in 5 minuti di reazione a 37°, si ottiene nelle condizioni indicate da BRUNS, un valore di $E_{1\,cm} = 0{,}500$ a 540 mμ.

Dosaggio della attività TPDasica — Avendo dimostrato negli estratti la presenza di aldolasi, si è usato come substrato il fruttosio-1,6-difosfato. E' noto che l'aldolasi non viene inibita dall'acido iodoacetico (4).

Ai liquidi di reazione si aggiunge NaF per inibire l'enolasi ed evitare quindi l'eventuale formazione di acido piruvico che in presenza della lattico deidrogenasi potrebbe competere con il 2,6-diclorofenolindofenolo come accettore di idrogeno.

Metodo I — Nel tubo del colorimetro si pone: 1 cm³ tampone fosfati 0,13 M (pH 6,5 per estratti di *P. americana* e pH 5,9 per estratti di *M. domestica*) + 0,15 cm³ NaF 0,4 M + 0,4 cm³ di DPN al 0,1% + 0,25 cm³ HDP al 2% + 0,7 cm³ di 2,6-diclorofenolindofenolo 0,0005 M + 0,3 cm³ di acqua. Al tempo *O* si aggiungono 0,2 cm³ di estratto, si agita e si fanno le letture, ogni 30 secondi per 5 minuti, alla lunghezza d'onda di 600 mμ o con filtro adeguato. Si otten-

gono delle curve di reazione come quella riportata nella figura 1. Nella stessa figura è anche riportata la curva di una reazione in assenza di substrato (HDP) Si nota che in tal caso la decolorazione del 2,6 diclorofenolindofenolo in 5 minuti è del tutto trascurabile.

Come valore dell'attività enzimatica, si considera l'entità della decolorazione nei primi due minuti e mezzo di reazione (figura 1).

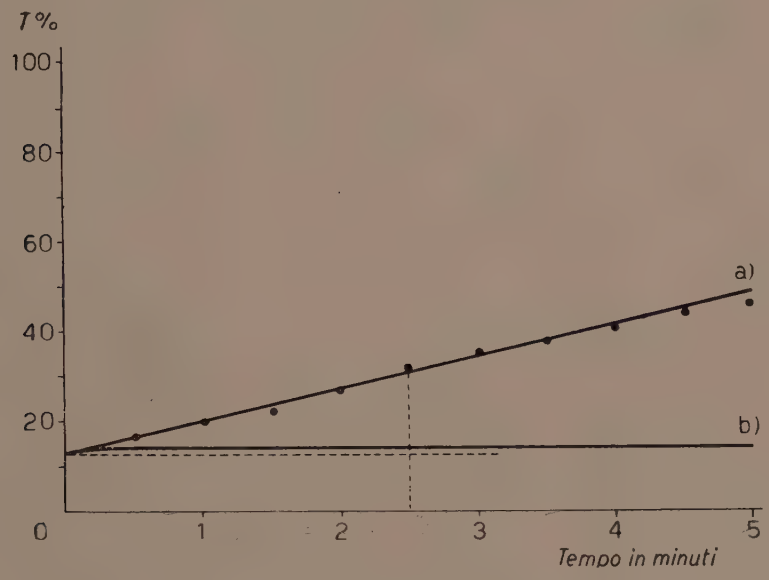


Fig. 1. - Andamento della reazione enzimatica con estratto di coxe di *P. americana*, secondo il metodo I, *a*) in presenza di substrato, *b*) in assenza di substrato.

In tutte le prove si è operato a temperatura ambiente prossima ai 22°. Dato che anche da un giorno all'altro le oscillazioni di temperatura sono state molto modeste, non si sono mai apportate delle correzioni.

Il pH ottimale di reazione è stato determinato, secondo la tecnica usuale, dosando l'attività di uno stesso estratto a vari valori del pH. Le curve attività enzimatica/pH sono riportate nella figura 2. Per gli estratti di tessuto muscolare di *P. americana* il pH ottimale è 6,5 mentre per gli estratti di *M. domestica* in toto è 5,9. Per tutta la gamma di pH presa in esame si è usata la soluzione tamponante di fosfati.

E' stato anche determinato il rapporto concentrazione dell'enzima/attività enzimatica, misurando l'attività di varie quantità di uno stesso estratto di tessuto muscolare di *P. americana*.

Dalla figura 3 si può notare che vi è proporzionalità fra concentrazione dell'enzima e attività enzimatica.

Durante le prime prove di dosaggio dell'attività TPDasica, si è notato che

gli estratti torbidi, per centrifugazione insufficiente, davano delle curve di reazione alterate e valori della attività enzimatica notevolmente più bassi. Nella

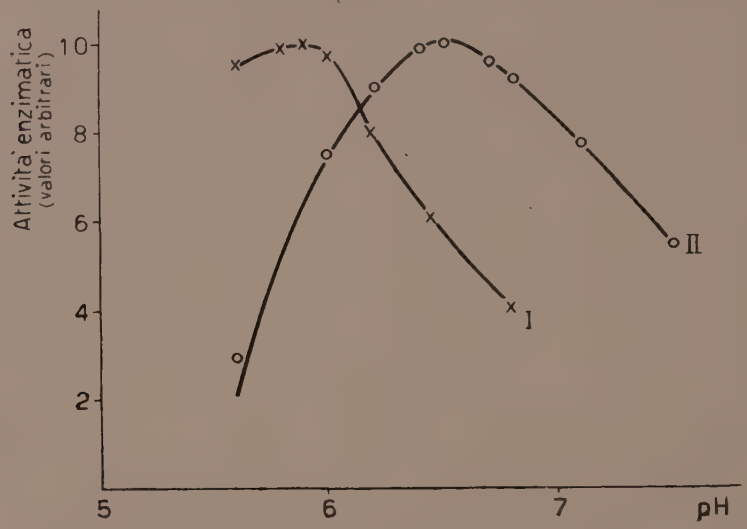


Fig. 2. - Influenza del pH sulla attività TPDasica in estratto di: I) *M. domestica* in toto, II) tessuto muscolare di *P. americana*.

figura 4 sono riportate le curve di reazione di un estratto di mosche in toto, centrifugato per 20 minuti, prima a 8.000 giri/minuto (torbido) e poi a 16.000 giri/minuto (limpido).

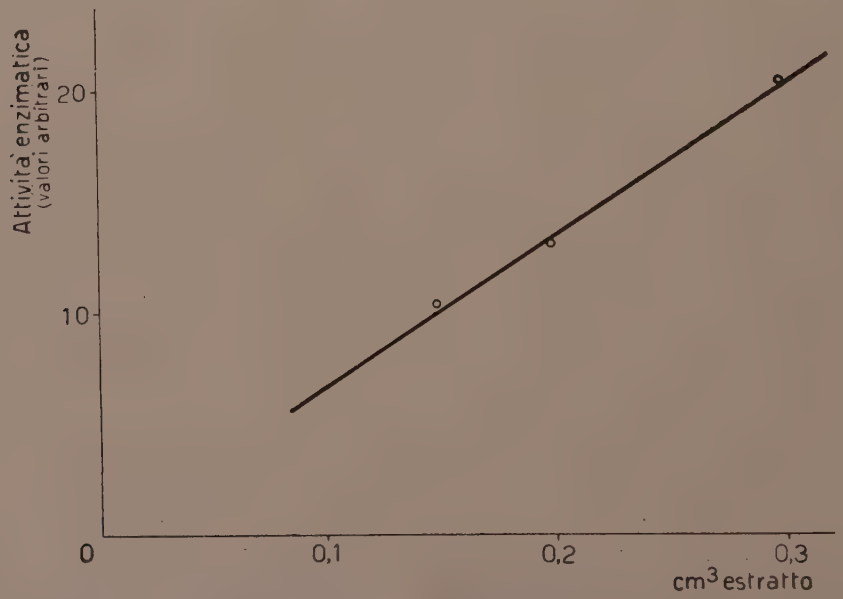


Fig 3. - Relazione tra attività TPDasica e concentrazione dell'enzima. In ascisse sono riportati i cm³ di un estratto di tessuto muscolare di *P. americana*.

Se si aggiunge del KCN agli estratti torbidi, le curve di reazione riprendono la loro forma regolare ed i valori dell'attività enzimatica risultano anche

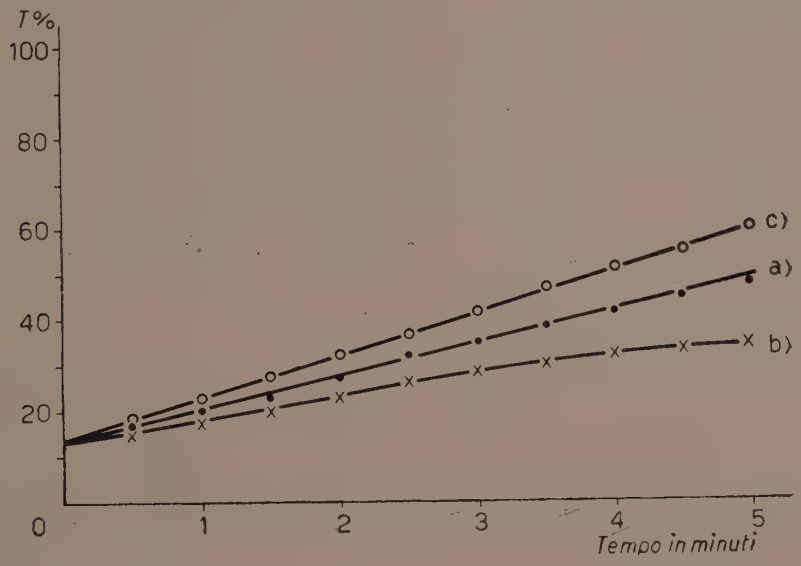


Fig. 4. - Andamento della reazione enzimatica con estratto di *M. domestica* in toto: *a*) estratto limpido in assenza di KCN (metodo I), *b*) estratto torbido in assenza di KCN (metodo I), c) estratto torbido o limpido con KCN (metodo II).

più alti di quelli ottenuti con lo stesso estratto, limpido, ma in assenza di KCN (figura 4). Il KCN quindi, oltre ad eliminare l'effetto competitivo del materiale difficilmente centrifugabile con il 2,6-diclorofenolindofenolo, riattiva quella frazione di enzima che si è ossidata durante la preparazione dell'estratto. Difatti, poichè la TPD è un enzima tiolico attivo solo nella sua forma ridotta, si ha presumibilmente un effetto attivante del KCN simile a quello già descritto da Ledoux (17) per la ribonucleasi.

Un attivatore molto più energico è la cisteina, usata anche da Cori e coll. (14) nelle loro preparazioni di enzima cristallino. Nel nostro caso la cisteina non può essere usata perchè nelle condizioni del metodo essa riduce rapidamente il 2,6 diclorofenolindofenolo. Nella esecuzione del metodo si dovrà quindi far uso di KCN. Il metodo di dosaggio definitivo, da noi usato in tutte le successive prove è il seguente:

Metodo II — Nel tubo del colorimetro si pongono: 1 cm³ tampone fosfati 0,13 M (pH 6,5 per estratti di *P. americana* e pH 5,9 per estratti di *M. domestica*) + 0,15 cm³ NaF 0,4 M + 0,4 cm³ DPN al 0,1% + 0,25 cm³ HDP al 2% + 0,1 cm³ KCN 0,003 M + 0,2 cm³ di acqua. Al tempo *O* si aggiungono 0,2 cm³ di estratto e si lascia a temperatura ambiente per 3 minuti. Trascorso tale

periodo di tempo, si aggiungono rapidamente 0,7 cm^3 di 2,6-diclorofenolindofenolo e si eseguono le letture ogni 30 secondi per 5 minuti.

Tecnica impiegata nelle prove di inibizione in vitro della TPD con acido iodoacetico.

Abbiamo seguito le modalità indicate da Cori e coll. (14) per la TPD dei muscoli di vertebrati. A 0,5 cm^3 di estratto di tessuto muscolare di *P. americana*, vengono addizionati 0,5 cm^3 di una soluzione 0,001 M di acido iodoacetico in modo da avere una concentrazione finale 0,0005 M in acido iodoacetico. Si mantiene a 0° e dopo 15 minuti e dopo 30 minuti si prelevano dalla soluzione 0,4 cm^3 (corrispondenti a 0,2 cm^3 di estratto) per il dosaggio della attività enzimatica secondo il metodo I.

Inoculazione in *P. americana*.

Per le nostre esperienze, sono state usate femmine di *P. americana*. Le inoculazioni sono state eseguite direttamente nella cavità celomatica, inserendo l'ago (N. 20, con la estremità smussata) tra il 3° ed il 4° uretergo, nel punto di mezzo tra la linea mediana ed il margine laterale dell'addome, facendo scorrere l'ago sotto l'esoscheletro, senza ledere perciò gli organi vitali dell'insetto.

Le soluzioni del materiale in esame sono state inoculate per mezzo di siringa micrometrica precisa al 0,25 μl. (La precisione della vite micrometrica, del tipo corrente, è stata aumentata inserendo alla base della vite un disco goniometrico diviso in 400° e fornendo al supporto della vite un traguardo fisso. In tale maniera, 1/10 di giro, che rappresenta una lunghezza considerevole sulla periferia del disco goniometrico e quindi ben determinabile sul traguardo fisso, fornisce μl 0,25 usando una comune siringa da tubercolina).

Preparazione del materiale biologico per le prove di inibizione della TPD in vivo.

A gruppi di 10 femmine di *P. americana* sono state prelevate le zampe metatoraciche di un solo lato, recidendole a livello del trocantino ed eliminando il femore e gli altri segmenti distali. Su tale materiale (coxe), costituito nella sua quasi totalità da tessuto muscolare, è stata dosata l'attività enzimatica come controllo dei valori normali. Gli stessi individui sono stati quindi, inoculati con soluzione acquosa di iodoacetato di sodio e, trascorsi 60 minuti, sono state prelevate le zampe metatoraciche del lato opposto per rilevare la eventuale inibizione della TPD da parte della sostanza inoculata.

Prove di abbattimento.

Per le prove di abbattimento, abbiamo dovuto impiegare un metodo standard per evitare le molteplici cause di errore che avrebbero alterato i valori delle DL_{50}.

I ceppi di *M. domestica* sono stati allevati nei mezzi culturali e con gli accorgimenti di tecnica comunemente usati in laboratorio. Si è posta particolare attenzione affinchè il numero di uova seminate nei terreni fosse sempre proporzionato alla quantità di terreno, per evitare diversità nelle dimensioni degli esemplari nelle varie generazioni. Sono stati usati esemplari maschi e femmine di 4-7 giorni di età. Le mosche sono state prelevate dall'allevamento generale con un aspiratore, cercando di evitare ogni inutile trauma, quindi immesse in gabbiette, tenendo separati i sessi, a gruppi di 50 esemplari ognuno. Al momento della prova, la gabbietta veniva collocata in un sacchetto di materiale plastico ove veniva immessa anidride carbonica. Le mosche anestetizzate si passavano quindi nei recipienti trattati con acido cloroacetico ove si mantenevano per il periodo di un'ora. Alla fine di tale periodo, dopo nuova anestesia con anidride carbonica, le mosche venivano poste ancora nelle loro gabbiette (con acqua e zucchero) e tenute in osservazione per 24 ore al termine delle quali venivano contati gli individui abbattuti. (Le conte sono state effettuate sempre dalla stessa persona al fine di evitare differenze nella valutazione dei risultati).

Poichè l'azione tossica delle sostanze in esperimento è irreversibile, il termine «abbattimento» è stato sostituito da quello «mortalità» ed abbiamo considerato morti anche gli individui abbattuti e quelli moribondi.

Trattamento delle superfici di contatto.

Le superfici di contatto sono costituite da fogli di carta bibula trattati con soluzione di acido cloroacetico in olio di oliva. Per una buona riproducibilità del metodo, è indispensabile usare sempre lo stesso tipo di carta. Nelle nostre prove abbiamo impiegato una comune carta da filtro martellata.

Si è usato come solvente l'olio di oliva poichè questo oltre a non essere tossico per le mosche domestiche (18) nelle condizioni dell'esperimento, ha mostrato di essere un ottimo solvente per l'acido cloroacetico e di diminuirne notevolmente la volatilità. E' stata impiegata una soluzione di acido cloroacetico in olio di oliva-etere 1:2 onde facilitare la distribuzione della sostanza sulla carta bibula. Il liquido è stato distribuito con pipette graduate su porzioni di carta aventi le seguenti dimensioni: rettangoli di 24 / 12,5 cm., dischi del diametro di 10 e 6 cm. La carta, per il trattamento, veniva appoggiata sulle punte di spilli disposti verticalmente su un piano. Dopo il trattamento le carte venivano sospese per 60 minuti a temperatura ambiente onde permettere al liquido di distribuirsi uniformemente sulla carta bibula ed all'etere di evaporare.

Quindi i rettangoli di carta venivano piegati in modo da formare dei cilindri aperti alle basi unendo i due lati più corti fra di loro con due punti metallici sì da ottenere dei cilindri con diametro non superiore a quello dei beakers da noi usati come supporto della carta. Sul fondo del beaker veniva collocato il disco di carta del diametro di 6 cm., quindi veniva introdotto il cilindro e sopra

veniva posto il secondo disco del diametro di 10 cm ove era stato previamente praticato un foro del diametro di 0,5 cm. In tal maniera abbiamo ottenuto dei recipienti cilindrici di carta le pareti dei quali erano state trattate uniformemente con quantità note di acido cloroacetico in olio di oliva.

Il foro praticato nella base superiore del cilindro veniva coperto con un vetrino portaoggetto onde permettere l'osservazione nell'interno del cilindro. Il foro è inoltre servito ad introdurre CO_2, per anestetizzare le mosche ad esposizione avvenuta, senza pericolo di fuoriuscita degli insetti.

Selezione di ceppi di *M. domestica* con acido cloroacetico.

Al fine di determinare se è possibile ottenere un aumento della tolleranza verso l'acido cloroacetico in ceppi di *M. domestica*, abbiamo sottoposto una serie di generazioni a trattamenti seguendo le modalità appresso riportate.

Dai ceppi S-Roma ed R-Sardegna, da tempo allevati in questo Laboratorio, sono state originate due nuove linee che sono state selezionate verso l'acido cloroacetico per contatto, e si è continuato ad allevare i ceppi di origine, come precedentemente descritto.

Per ciascuna generazione delle nuove linee sono stati separati i maschi dalle femmine prima di fornir loro qualsiasi nutrimento, evitandone così l'accoppiamento.

Circa 300 maschi e 300 femmine di ogni generazione venivano esposti separatamente per un tempo determinato all'azione per contatto dell'acido cloroacetico a concentrazioni tali da avere una sopravvivenza di circa il 40% sia delle femmine che dei maschi. Tutti i sopravvissuti furono usati per ottenere la generazione successiva.

RISULTATI

DL_{50} nei vari ceppi di *M. domestica*.

Le DL_{50} sono state determinate, secondo il metodo già descritto, nei seguenti ceppi di *M. domestica*: S-Roma ed R-Sardegna.

I risultati sono riportati nella Tab. II. In essa si nota che i valori delle DL_{50} non sono sostanzialmente diversi per i due ceppi.

Attività TPDasica in estratti di *P. americana* e di *M. domestica*.

Abbiamo determinato l'attività TPDasica in estratti di coxe di *P. americana* ed in estratti di *M. domestica* in toto, preparati secondo le modalità già descritte nel metodo.

I risultati sono riportati nella Tab. III. Da essa risulta che le due specie

TABELLA II

DL_{50} di acido cloroacetico, per contatto, in ♂♂ e ♀♀ di M. domestica *dei ceppi S-Roma e R-Sardegna.*

Ceppo	Data	DL_{50} ♀♀ g/m²	DL_{50} ♂♂ g/m²
S-Roma . . .	15-1-1954	1,50	0,50
» » . . .	13-3-1954	0,65	0,57
» » . . .	21-4-1954	1,25	0,65
R-Sardegna .	15-1-1954	1,70	0,80
» » . .	13-3-1954	0,80	0,40
» » . .	21-4-1954	1,40	0,60

di insetti danno valori pressochè eguali di attività TPDasica. Tale attività è eguale anche per ceppi diversi di *M. domestica*. Il pH ottimale di reazione è diverso per le due specie.

TABELLA III

Attività TPDasica in estratti di P. americana *e di* M. domestica.

Specie	Materiale	Attività enzimatica (Valori arbitrari)	pH ottimale per la reazione enzimatica
P. americana ♀♀ . .	Estratto delle coxe	12,5 12,9 13,7	6,5
M. domestica ♀♀ . . (S-Roma)	Estratto in toto	13,4 11,0 13,4	5,9
M. domestica ♀♀ . . (R-Sardegna)	» » »	13,5 10,5 13,7	5,9

INIBIZIONE DELLA TPD CON GLI ACIDI IODO- E CLOROACETICO.

Inibizione in vitro — Per studiare l'azione inibente dell'acido iodoacetico in vitro sulla TPD, si sono usati estratti di coxe di *P. americana*. Gli estratti sono stati incubati a 0° per 15 minuti e per 30 minuti con acido iodoacetico 0.0005 M, secondo le modalità già descritte.

Come risulta dalla Tab. IV e dalle curve riportate nella figura 5, si ottiene una sensibile inibizione della attività enzimatica proporzionale al tempo di incubazione con acido iodoacetico.

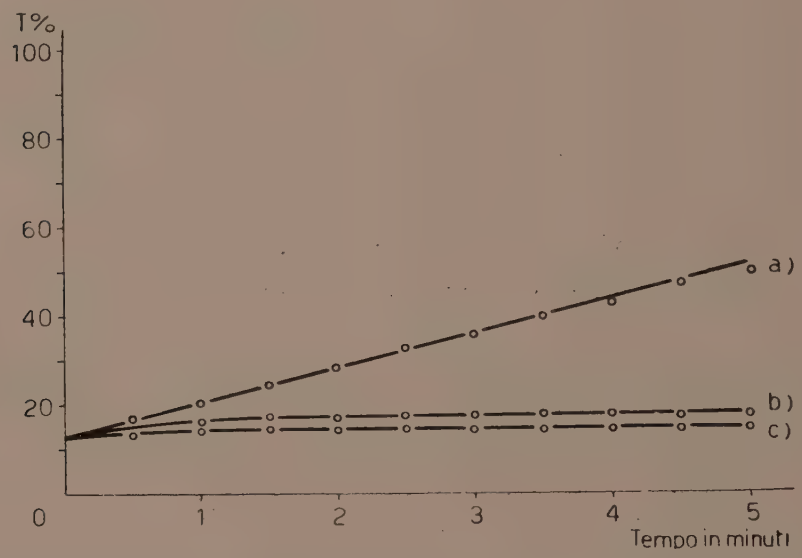


Fig. 5. - Azione dell'acido iodoacetico alla TPD in estratti di *P. americana*: *a*) andamento normale della reazione enzimatica, *b*) andamento della reazione enzimatica dopo 15' di incubazione a 0°C, in acido iodoacetico 0,0005M, *c*) idem dopo 30'.

TABELLA IV

Inibizione della TPD in estratti dei muscoli coxali di P. americana ♀♀, *incubati a 0° C, a vari tempi, in acido iodoacetico* 0,0005 *M.*

	Estratti non trattati	Estratti trattati per 15'	Estratti trattati per 30'
Attività enzimatica (valori arbitrari)	**13,03**	**5.2**	**2,6**

Inibizione in vivo — Nelle prove di inibizione della attività TPDasica in vivo nella *P. americana*, i dosaggi sono stati eseguiti su estratti di coxe, prima e dopo inoculazione di acido iodoacetico, come già descritto.

Dosi di 1 mg di acido iodoacetico per grammo di blatta (DL_{50} per femmina di *P. americana* = 0,1 mg/g) (1) determinano una inibizione completa della attività enzimatica, come si osserva nel grafico della figura 6.

Per le prove di inibizione in vivo su *M. domestica,* gruppi di 100 femmine del ceppo R-Sardegna sono stati posti, secondo la tecnica già descritta, a contatto di carta bibula imbevuta di olio di oliva contenente acido cloroacetico a differenti concentrazioni sì da avere 0,25-6,00 g/m^2. Per i vari gruppi si è determinata sia la percentuale di mortalità che l'inibizione percentuale dell'attività enzimatica.

Come risulta dal grafico della figura 7, la curva di inibizione enzimatica è parallela, ma più bassa, di quella di mortalità.

Selezione di ceppi di *M. domestica* con acido cloroacetico.

Seguendo il metodo già descritto, abbiamo selezionato due ceppi di *M. domestica* (S-Roma ed R-Sardegna) verso l'acido cloroacetico.

Tabella V

Grado di sensibilità all'acido cloroacetico ed attività TPDasica degli estratti di ceppi di M. domestica, *selezionati verso la stessa sostanza, a livello di varie generazioni.*

Ceppi di *M. domestica*	Generazione	DL_{50} Acido cloroacetico g/m^2	Attività TPDasica (Valori arbitrari
S-Roma . . .	prima della selezione	1,25	12,6
» . . .	F_1	1,25	
» . . .	F_{10}	1,50	
» . . .	F_{26}	2,20	
» . . .	F_{27}	1,50	12,3
R-Sardegna .	prima della selezione	1,40	12,6
» . .	F_1	1,40	
» . .	F_{14}	1,60	
» . .	F_{26}	1,10	
» . .	F_2	1,65	
» . .	F_{29}	3,35	
» . .	F_{30}	2,40	13,0

I risultati sono riportati nella Tab. V. Da questa risulta che dopo 30 generazioni non si ha un sensibile aumento della tolleranza all'acido cloroacetico nei due ceppi, nè una variazione dei valori dell'attività TPDasica.

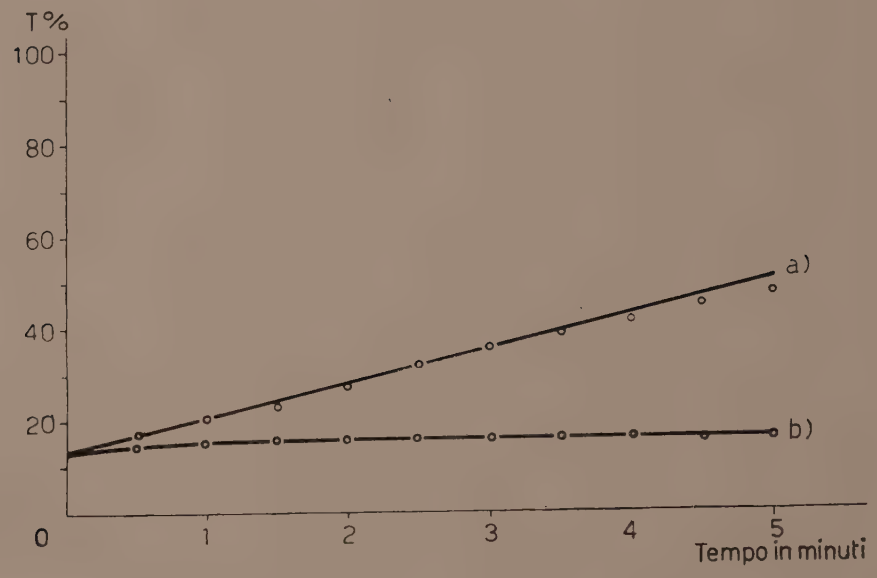


Fig. 6. - Azione in vivo dell'acido iodoacetico sulla TPD nella *P. americana*: *a*) andamento della reazione enzimatica di estratti di coxe, *b*) idem dopo inoculazione di acido iodoacetico, 1 mg/g di blatta.

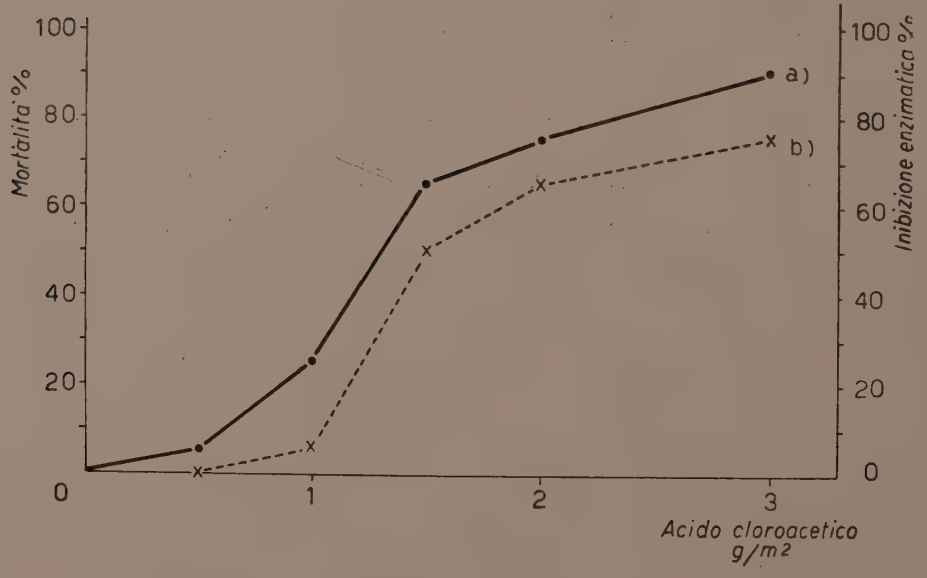


Fig. 7. - Rapporto fra percentuale di mortalità e percentuale di inibizione TPDasica in *M. domestica* (R-Sardegna) a contatto con varie concentrazioni di acido cloroacetico *a*) mortalità percentuale, *b*) inibizione TPDasica percentuale.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'esame dei risultati ottenuti nel corso degli esperimenti sopra riportati e di quelli altrove pubblicati, conducono alle seguenti considerazioni.

L'attività TPDasica nelle specie *M. domestica* e *P. americana* risulta di egual grado, mentre è diverso il pH ottimale per la reazione enzimatica. Ceppi di *M. domestica* sensibili e resistenti agli insetticidi « clorurati » (intendendo qui per « clorurati » quegli insetticidi contenenti cloro nella loro molecola, rappresentati da: DDT ed analoghi, chlordane ed analoghi, lindano) mostrano eguale grado di attività.

La tossicità delle sostanze alchilanti alogenate verso gli insetti sembrerebbe legata alla inibizione della TPD. A dimostrazione di ciò stanno i seguenti fatti: 1) L'attività TPDasica viene inibita sia in vitro che in vivo dagli acidi iodo e cloroacetico. 2) La curva della inibizione enzimatica è parallela a quella della mortalità, per mosche poste a contatto di acido cloroacetico. 3) La paralisi in contrazione dei muscoli negli insetti in seguito ad intossicazione con gli alchilanti alogenati, è analoga a quella che si riscontra nei vertebrati.

Altra considerazione degna di rilievo è che, sia ceppi sensibili di *M. domestica* che ceppi già altamente resistenti verso i composti « clorurati », sono in egual misura suscettibili agli alchilanti alogenati. Il meccanismo di azione tossica dei « clorurati » sarebbe quindi sostanzialmente diverso da quello proprio alle sostanze alchilanti alogenate. Se così non fosse, i ceppi di *M. domestica* resistenti ai « clorurati » dovrebbero mostrare almeno un certo grado di resistenza anche verso gli alchilanti alogenati.

Quindi è chiaro che il meccanismo della resistenza comune verso tutti i prodotti « clorurati », pur tanto differenti chimicamente fra di loro ma aventi tutti il cloro presente nella loro molecola, non si manifesta nei confronti degli alchilanti alogenati, neppure nel caso dell'acido cloroacetico.

Altro fatto emerso dagli esperimenti è che ceppi di *M. domestica* selezionati verso gli alchilanti alogenati non mostrano una sensibile diminuzione della loro suscettibilità verso tali sostanze, anche nel caso in cui la selezione sia effettuata per 30 generazioni nella maniera più idonea per ottenere il maggior grado di resistenza nel minor numero di generazioni. (Nei ceppi così selezionati non risulta neanche aumentata la attività TPDasica).

Decker e Bruce (19) riportano invece che un ceppo sensibile, selezionato verso il chlordane, sviluppò in 30 generazioni un grado di resistenza espresso da una DL_{50} 6 volte maggiore dell'originale, mentre lo stesso ceppo selezionato verso il DDT raggiunse in 30 generazioni un grado di resistenza di 250 volte circa. (Per altri « clorurati » sono stati ottenuti valori intermedi).

Quanto sopra conferma che il meccanismo di azione degli alchilanti alogenati è sostanzialmente diverso da quello dei « clorurati ».

E' opportuno mettere in evidenza l'interesse che possono avere questi ri-

sultati ai fini di un impego pratico di sostanze insetticide del tipo degli alchilanti alogenati. Una analogia nel senso della limitata tendenza a sviluppare un grado di resistenza, può essere fatta tra gli alchilanti alogenati e gli esteri fosforici. In ambedue i casi si tratta di inibitori specifici di enzimi di importanza vitale per l'organismo. Inoltre, ambedue le classi di sostanze non determinano per selezione un apprezzabile aumento di tolleranza. Difatti, per il parathion, sono state necessarie 60 generazioni per ottenere una resistenza di 6 volte (20).

Che la TPD del tessuto muscolare degli organismi animali venga inibita dagli alchilanti alogenati, è cosa indubbia. Bisogna però ancora dimostrare, per gli insetti, se vi siano muscoli colpiti selettivamente, e fra questi, quali siano i muscoli di importanza vitale. Esperimenti in corso hanno dimostrato che l'inoculazione di 4 DL_{50} nella *P. americana* porta, innanzi tutto, ad un arresto dell'attività cardiaca e, solo dopo qualche ora, alla paralisi muscolare generale.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il Prof. R. MILANI per i preziosi suggerimenti a riguardo della selezione dei ceppi di *M. domestica*. La nostra riconoscenza va anche al tecnico Signor G. PIERDOMINICI il quale ha assiduamente prestato la sua valida opera nel corso degli esperimenti.

RIASSUNTO

Gli AA., dopo aver accennato ai loro precedenti lavori sull'argomento, riportano per esteso le loro esperienze sulla azione degli acidi iodo— e cloroacetico su *P. americana* e su vari ceppi di *M. domestica*. Queste sostanze hanno dimostrato di possedere una notevole azione insetticida per contatto, espletata attraverso l'inibizione della triosofosfatodeidrogenasi (TPD).

Viene descritto dettagliatamente il metodo elaborato dagli AA. per il dosaggio della TPD, effettuato colorimetricamente usando il 2,6 - diclorofenolindofenolo come accettore d'idrogeno. Inoltre gli AA. riportano le tecniche impiegate per le prove di inibizione della TPD da parte dell'acido iodoacetico in vitro ed in vivo in *P. americana* e per le prove di mortalità in *M. domestica*.

Gli AA. hanno riscontrato che non vi è sostanziale differenza nei valori della DL_{50} (acido cloroacetico per contatto), per due ceppi di *M. domestica*, uno sensibile e l'altro resistente alle sostanze insetticide «clorurate» (DDT, ecc.), e che i valori dell'attività TPDasica sono eguali per le due specie di insetti (*P. americana* e *M. domestica*).

E' stato inoltre rilevato che l'inibizione in vitro della TPD in estratti di *P. americana* è proporzionale al tempo di incubazione con acido iodoacetico e che, in vivo, l'inoculazione di 1 mg di acido iodoacetico /g di blatta determina una inibizione completa della attività TPDasica. Nelle prove di inibizione in vivo su *M. domestica* è risultato che la curva della inibizione TPDasica è parallela, ma più bassa, di quella di mortalità.

Gli AA. hanno tentato di ottenere un aumento della tolleranza verso l'acido cloroacetico in ceppi di *M. domestica*. Dopo aver descritto il metodo da essi seguito, riportano di non aver ottenuto, dopo 30 generazioni, un sensibile aumento della tolleranza all'acido cloroacetico nei due ceppi selezionati, nè una variazione dei valori dell'attività TPDasica degli estratti.

SUMMARY

The authors summarize their previous work and give a complete report of their experiments on the action of iodo- and chloroacetic acid on *Periplaneta americana* and on two strains of *Musca domestica*. These substances have been shown to be capable of considerable insecticidal action by contact through the inhibition of triosephosphate dehydrogenase (TPD).

They describe in detail the colorimetric method employed for the estimation of TPD using 2,6 - dichlorophenolindophenol as hydrogen acceptor and the technique employed for *in vitro* and *in vivo* tests for TPD inhibition by iodoacetic acid and for the housefly « kill » tests.

The authors have shown that there is no substantial difference in the LD_{50} values (chloroacetic acid by contact) of two strains of *M. domestica* one of which is susceptible and the other resistant to chlorinated hydrocarbons (DDT, & c.). They have shown, moreover, that the TPD activities for the two insect species (*P. americana* and *M. domestica*) are equal.

It has also been demonstrated that TPD inhibition *in vitro* in *P. americana* extracts is proportional to the time of incubation with iodoacetic acid, and that the injection of 1 mg of iodoacetic acid per g of roach *in vivo* determines a complete inhibition of TPD activity. In the *in vivo* inhibition tests on *M. domestica* the TPD inhibition curve was parallel to the mortality curve, but lower.

The authors tried to obtain an increase of tolerance towards chloroacetic acid in strains of *M. domestica*. They describe their selection method and report that in 30 generations they did not succeed in obtaining a noticeable increase in tolerance towards chloroacetic acid in the two strains subjected to selection nor a variation in the TPD activity value of their extracts.

BIBLIOGRAFIA

1) Bettini S. e Boccacci M. (1951): *Riv. Parass., 13*, 165.
2) Michaelis L. e Schubert M. P. (1934): *J. Biol Chem., 106*, 331.
3) Barron E. S. G. (1951): Advances in Enzymology, *XI*, 201.
4) Mackworth J. F. (1948): *Bioch J., 42*, 82.
5) Rapkine L. (1938): *Bioch J., 32*, 1729.
6) Lundsgaard E. (1930): *Bioch. Zeit., 217*, 162; (1930): *ibid. 220*, 1; (1930): *ibid. 220*, 8.
7) Lohman K. (1934): *Bioch. Zeit., 271*, 264.
8) Godeaux J. (1948): *Physiol. Compar. et Oecol. 1*, 352.
9) Seligman K. e Rutenburg A. M. (1951): *Science, 113*, 317.
10) Bettini S. e Boccacci M. (1954): *Rend Ist. Sup. San., 17*, 188.
11) Meyerhof O. e Ohlmeyer P. (1936): *Naturwissenschaften, 24*, 741.
12) Quastel J. H. e Wheatley A. H. M. (1938): *Bioch. J., 32*, 936.
13) Drabkin D. L. e Meyerhof O. (1945): *J. Biol. Chem. 157*, 571.
14) Cori G. T., Slein M. W. e Cori F. (1948): *J. Biol. Chem., 173*, 605.
15) Baldwin E. e Needham D. M. (1934): *J. Physiol., 80*, 221.
16) Bruns F. (1954): *Bioch. Zeitschrift 325*, 156.
17) Ledoux L. (1954): *Bioch. et Biophy. Acta, 13*, 121.
18) Kocher C. e Ascher K. R. S. (1954): *Riv. Parass., 15*, 103.
19) Decker G. C. e Bruce W. N. (1952): *Confer. on Insect Physiol.*, Cincinnati, 26.
20) March R. B. (1952): *ibid.* 47.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

INSECT-RESISTANCE TO DIELDRIN

A SURVEY OF THE LITERATURE

K. R. S. ASCHER

Dieldrin, formerly compound 497, has as its active ingredient 1, 2, 3, 4, 10, 10 — hexachloro — 6,7, — epoxy — 1, 4, 4a, 5, 7, 8, 8a — octahydro — 1, 4, 5, 8 — dimethanonaphthalene (not less than 85%). It was introduced in the field in 1949 and since it shows a quite interesting resistance pattern, it was deemed of use to review the literature concerning dieldrin-resistance among insects of medical importance. The greatest number of reports about dieldrin-resistance has been recorded for the housefly and it seems that trouble in the housefly sector started immediately upon introduction of the insecticide for control of this pest. There are however also a few reports concerning laboratory investigations and field reports of other dieldrin-resistant insects, and ticks and these will be reviewed briefly before the lengthy record of the housefly.

Mosquitoes

Dieldrin has, so far, not been used extensively against mosquitoes. Claims have been advanced, that dieldrin has only a comparatively slow rate of knock-down against the following species of mosquitoes (adults): *Aedes vexans* Meig., *Aedes sticticus* Meig., *Culex pipiens* L., *Culex tarsalis* Coq., *Culiseta incidens* Thom. (Yates 1950). Similar results have been obtained by Kocher et al. (1954) with adults of *Aedes aegypti* L., *Culex molestus* Forsk, and *Anopheles stephensi* List. On the other hand, in various papers by G. Davidson (see e.g. Davidson 1952, Davidson and Burnett 1952 etc.) excellent results were claimed for dieldrin in the anopheline sector.

Keller and Chapman (1951, 1952, 1953) reported, that in laboratory tests salt marsh mosquito larvae (*Aedes taeniorhynchus* Wied. and *Aedes sollicitans* Wlkr.) from an intensely treated area in Brevard County, Florida were less susceptible to dieldrin and various other insecticides than larvae from an oc-

casionally treated area in the same county. CHAPMANN et al. (1954) found dieldrin in 1952 to be less efficient in comparison with other chlorinated hydrocarbons, than in 1951, when used against adults of the salt marsh mosquitoes mentioned above. No explanation was offered for this change.

TICKS

FIEDLER (1952) investigated the susceptibility towards chlorinated hydrocarbons of larvae of the BHC-resistant blue tick (*Boophilus decoloratus* Koch) in Eastern Cape Province, South Africa. The time dieldrin took to paralyse larvae of a susceptible strain was 1,5 hours, while for the resistant strain it was 24 hours (i.e. x 16). No difference was found between the two strains as regards paralysing time by DDT, which was 0,5 hours for both strains.

In Queensland, The Rockhampton strain of the BHC-resistant cattle tick (*Boophilus microplus* Canestrini) was also resistant to other chlorinated hydrocarbons among them dieldrin (HITCHCOK 1953).

COCKROACHES

FISK and ISERT (1953) evaluated the resistance of several organic insecticides towards a chlordane-resistant strain and a slightly DDT-resistant strain of the German cockroach, *Blattella germanica* L., as compared to a non-resistant (normal) strain. The DDT-resistant strain showed no enhanced resistance at all to dieldrin, while the chlordane-resistant strain had a high cross-resistance to dieldrin (×68) and practically no resistance to DDT (×1,4), when compared to the normal strain. Moreover, it seems, that the resistance of the DDT-resistant strain had reverted during nine generations without exposure to the insecticide, while in the chlordane/dieldrin-resistant strain little or no reversion had taken place.

HOUSEFLIES

A. Reports and Investigations about strains from USA

MARCH and METCALF (1949) were probably among the first investigators, who encountered dieldrin-resistant houseflies in the field. On August 16-17, 1949, the south portion of the Pollard Ranch (southern California) was treated with a wettable powder formulation of (the then still experimental) compound 497 (dieldrin). By August 19, however, there was a heavy infestation of flies in the treated area. In subsequent laboratory tests it was shown, that the Pollard strain was 45 times more resistant to dieldrin than a laboratory strain.

Although resistance of the Pollard type had appeared only on a limited

scale in the late summer of 1949, a considerable number of reports of such a resistance were forthcoming in 1950 (MARCH and METCALF 1950). One example was that of a strain of houseflies received from Phoenix, Arizona, which was even more resistant to dieldrin than the Pollard strain. MARCH and METCALF concluded therefore, that the degree of resistance exhibited by these strains made it impracticable to use dieldrin (and other chlorinated hydrocarbons) for residual fly control, where such strains were present. These authors subsequently developed in the laboratory a « Super Pollard » strain, which was more than three thousand times as resistant to dieldrin than a laboratory strain.

KING (1950) found that strains of houseflies highly resistant to DDT (Bellflower strain and Orlando special strain) showed *no* enhanced resistance to dieldrin as compared to a susceptible laboratory strain.

HANSENS (1950) found that dieldrin gave about a month of satisfactory fly control under field conditions against DDT-resistant flies, while in laboratory tests it yielded much better results. He assumed, that the poorer results in the field were probably due to the slow killing action of the insecticide. Later on, FAY et al. (1952) also found, with the help of an ingenious method, that dieldrin acts much slower on houseflies, than e.g. DDT.

However, it was evident already in 1950, that houseflies acquired dieldrin-resistance rapidly. PIMENTEL et al. (1950, 1951) found in laboratory studies, that houseflies could become highly resistant to dieldrin and lindane and other insecticides within as few as 8 generations. It is of interest, anyhow, that no difference was found in development of the lindane-resistance, whether one started from a susceptible or a DDT-resistant strain. PIMENTEL et al. (1953) developed a dieldrin-resistant strain of houseflies in the laboratory through exposure of adults only to the toxicant. As the resistance to dieldrin was increasing, these strains were not exposed to DDT, but resistance to this insecticide also increased.

These laboratory investigations were accompanied by field reports of dieldrin-resistance from various parts of the USA: QUARTERMAN (1950) reported, that in some areas of the USA flies could be controlled effectively by dieldrin for two seasons, whereas in others a high resistance developed to the new compound *within two months.*

SCHOOF et al. (1951) found dieldrin to be an effective chemical fly control measure in the fall of 1949 in various localities of the USA against DDT-resistant flies. In the Phoenix, Arizona area (see also the investigation of MARCH and METCALF 1950, above) however, the same measure failed spectacularly and completely, when employed for a second residual treatment in 1950. Field observations of the 1950 treatment uncovered a dieldrin-resistance noticeable through the absence of spectacular knock-down and initial mortality during the spraying period, as well as the finding of comparatively few « sick » flies at subsequent inspections. Houseflies were found to rest overnight on treated

surfaces without any apparent detrimental effect. In substantiation of these observations, laboratory tests showed the Phoenix flies to possess a dieldrin-resistance greatly exceeding that of the Pollard strain. The rapid appearance of this resistance 6 months after the first residual application of dieldrin was considered to be of extreme importance.

KNIPLING (1950, 1951) described observations from the Orlando area. In one barn flies developed a high degree of resistance after one season's use. This resistance was about 50 times normal after two to three applications of dieldrin.

According to GILBERT et al. (1953) three applications of dieldrin done at the Eunice dairy (near Orlando) from June to September 1949 were responsible for a high resistance of flies from this dairy, when tests were done in May 1950. By this time, residual sprays and aerosol treatments of dieldrin no longer yielded any practical control.

LINDSAY et al. (1953) related their experience with dieldrin-resistance in houseflies in two towns in Texas, in 1950. In May of that year, dieldrin was substituted for DDT in two towns in Texas and chlordane was introduced in a third. Almost complete control was maintained until the late August of that year, when it became evident from laboratory tests, that the houseflies had become resistant to dieldrin and chlordane. No dead or dying flies could be found, where reapplications of dieldrin and chlordane had been made and there was no appreciable difference between the mortalities of wild flies untreated, and subjected in the laboratory to heavy deposits of dieldrin. Although DDT did not give satisfactory control of the resistant flies, dead and dying flies were easily found, when further applications with it were made later on and the mortality of wild flies subjected to deposits of DDT in laboratory tests was significantly higher than among controls. This work points to a very high level of resistance towards dieldrin.

A special place has to be reserved to the extensive investigations of DECKER and BRUCE in this field:

BRUCE and DECKER (1950) described the development of dieldrin-resistant strains of houseflies, starting from a non-resistant laboratory strain (Lab strain I) which had no resistance to begin with, and a resistant strain (Methoxy strain I). Though the development of resistance to dieldrin was somewhat slower in the Dieldrin I strain (which originated in the non-resistant strain), resistance started to rise in the 12th generation and reached considerable heights already in the 22nd generation.

DECKER and BRUCE later on (1951 and see also BRUCE 1952) described the further development of a dieldrin-resistant strain from a laboratory strain. After the 36th generation this strain was more than 19000 times as resistant to dieldrin than a normal laboratory strain. Interestingly enough, their DDT-resistant strains DDT I and IV (laboratory developed) and DDT III (field strain) showed only slightest resistance ($\times 2$) and *no* resistance at all, respec-

tively, to dieldrin. A Multi strain IX (exposed for 19 generations to a mixture of chlordane, lindane, toxaphene, DDT, methoxychlor and dieldrin) exhibited among all these insecticides *the highest degree of resistance to dieldrin* (also more than 19000 times). DECKER and BRUCE were of the opinion, that when flies acquired even a high degree of resistance to DDT, they could have reached by that no more than a slight degree of cross resistance to dieldrin. On the other hand, chlordane, dieldrin and lindane apparently shared a close relationship in resistance, for one of them carried with it a fair degree of resistance for the other two. The relationship between chlordane and dieldrin seemed particularly close.

Even on farms in which DDT had not been used for two years (since the end of the 1948 season) introduction of dieldrin (and lindane) in 1949 and 1950 produced typical *multi-resistant* strains, in which DDT-resistance was intensified and the flies acquired resistance to dieldrin and lindane in the bargain. Thus substitution of DDT by dieldrin caused an all-over intensification of resistance.

BRUCE (1951) and BRUCE and DECKER (1951) reported also on the extremely high level of resistance towards dieldrin of their Multi strain X. This strain maintained the following level of resistance: 80 to 100 times normal to dilan, 210 times normal to methoxychlor, 231 times normal to toxaphene, 966 times normal to DDT, 1120 times normal to chlordane, 4860 times normal to lindane and 19000 times normal to dieldrin. Thus, in this strain too, the highest resistance by far was exhibited towards dieldrin. From samples picked up in the field in 1950, 8% showed resistance to dieldrin ranging from times 6 to about times 20 normal.

In 1951, already about 50% of samples picked up in the field, showed resistance to dieldrin according to DECKER and BRUCE (1952). The average value of dieldrin-resistance had climbed up to times 440 and resistance ranged up to times 2000 normal.

Further reports about dieldrin-resistance in the field in the USA can also be found in the more recent literature:

According to GOODWIN and SCHWARDT (1953) a very high level of resistance to dieldrin had developed and no effective control could be established with it in the New York area. These authors described a strip method, which gave effective control in 1950 and 1951, if dieldrin had not been used previously. There was related an interesting case of dieldrin-resistance in a new barn, where no insecticide of any type had been used previously. This barn was treated twice with dieldrin but control was never obtained. The authors assumed, that lindane-resistant flies had migrated into this barn(?) and postulated thus the existence of a cross-resistance between lindane and dieldrin, in this case.

WILSON et al. (1953) found a close correlation between the resistance of

houseflies to residues of dieldrin and several other chlorinated hydrocarbons and their resistance to *vapours* of dieldrin (and other chlorinated hydrocarbons possessing a fumigant effect, as e.g. lindane and chlordane). The exposure times required to cause mortality were too long to justify the conclusion, that these materials could be used as vapours to control resistant flies.

Farrar (1953) mentioned wide-spread dieldrin-resistance of wild houseflies. Two further reports from USA (Geib 1951 cited by Hess 1952 and Hansens 1953) are described at the end of this Review.

B. Reports and Investigations about strains from Europe

Harrison (1950) stated that there was no difference between a DDT-resistant strain and a non-resistant strain in their response to other chlorinated hydrocarbons.

Italian strains: Newman (1951) reported, that a strain of flies from La Plaia in Sardinia included dieldrin-resistant individuals.

Busvine (1951, 1951a) found that a DDT-resistant strain from Italy did not show any enhanced resistance to dieldrin as compared to a normal (Roman) strain. On the other hand, a Sardinian strain, which was about as resistant to DDT as the Italian strain, showed a high degree of resistance to dieldrin, which is not astonishing since chlordane had been used extensively in Sardinia.

In a later work, Busvine (1953) selected a line derived from the Italian strain for resistance to chlordane on six occasions over a period of 11 generations. There was an enormous rise in resistance to chlordane ($\times$ 500) and to dieldrin ($\times$ 300), with only a slight increase in resistance to DDT ($\times$ 2,2). Busvine arrived in this study at the following conclusions: « Resistance to BHC and chlordane in the housefly seems to be quite independent of DDT-tolerance. Changes in resistance to the first two do not affect the level of the latter and vice versa. On the other hand, the factors for resistance to BHC, chlordane and dieldrin are linked together, so that selection to one of them raises the resistance to the others. Possibly a single defence mechanism copes with a range of these chlorinated compounds ».

Missiroli (1951) selected with chlordane a strain exhibiting resistance to chlordane, dieldrin and other chlorinated hydrocarbons.

As regards field data, Hess (1952) gave the following description: « While chlordane/dieldrin-resistant flies had appeared in Italy already in 1950, it was evident by the end of 1951, that flies in every malaria region throughout Italy had become resistant to dieldrin and other chlorinated hydrocarbons ».

The wide-spread dieldrin-resistance of houseflies in Italy is described in papers by Mosna (1951), D'Alessandro et al. (1952) and also Corbo (1953).

Strains from Denmark: By July 1950, strains of houseflies highly resistant to dieldrin, could be found in Denmark (Pal 1951). Keiding (1951) reported

about Danish strains resistant to dieldrin, BHC, chlordane and toxaphene. Some of those were susceptible to DDT.

Four strains of flies collected in July 1950 from the island of Lolland, Denmark, where no control could be obtained with BHC and chlordane, were shown in the laboratory to be resistant to dieldrin (ANON. 1953).

C. Strains from other parts of the world.

In Panama, houseflies possess a very high resistance to dieldrin and other chlorinated hydrocarbons (SMITH 1951 cited by HESS 1952).

Cross resistances involving also dieldrin were reported by HARRISON (1951) about strains of houseflies in New Zealand.

In an investigation carried out in Nigeria by BUSVINE, it was found that a strain of houseflies (*M. domestica vicina*) from Ilaro was twice as resistant to dieldrin than a strain from Yaba. It seems, that no DDT had been used in these localities (BUSVINE and HARRISON 1953).

A very high resistance to dieldrin in houseflies in Liberia was described by PETERS at the Sixth Commonwealth Entomological Conference.

D. The treatment of larval infestations with dieldrin and its results.

According to QUARTERMAN and MATHIS (1952), dieldrin, and dieldrin + rosin only partially suppressed fly production in treated garbage cans with an active larval infestation in the bottom sludge, in 1950. Since no reference values are available for 1949, it is not clear whether this has to be ascribed to resistance, or whether it is due to insufficient activity of the dieldrin formulations used, against larvae. However, in 1951 dieldrin became even less effective.

HADJINICOLAOU and HANSENS (1953) treated a large manure pit of a dairy at Trenton farm (near Rutgers) with dieldrin, after preliminary tests had indicated that dieldrin and aldrin were the best materials to control a larval infestation. However, it turned out, that instead of repeated application giving improved control, the opposite occurred, until little control was obtained after the fourth insecticide application; 38 days elapsed between the first and the last application. Subsequently the resistance of adult flies from this location was tested and it was found, that the Trenton strain showed a high degree of resistance to dieldrin. The authors assumed that this strain had been selected largely by dieldrin, since the manure pit was several hundred yards away from the nearest point, where other insecticides had been used. This fast development of resistance took only *three to four generations.*

According to GOODWIN-BAILEY and DAVIES (1954) a wild strain of houseflies from a refuse tip in Hertfordshire, England was found to be 19 times more resistant to DDT, 53 times more resistant to BHC and *more than* 266 *times more resistant to dieldrin,* than a normal laboratory strain.

Concluding remarks

Dieldrin has the unfortunate property a) to create exceedingly high levels of resistance to itself, and b) to develop cross-resistances to other insecticides, which then leave later chemical control measures quite useless. Here are some further examples:

Geib (1951 cited by Hess 1952) reported a case, in which DDT-and BHC-resistant houseflies developed resistance to dieldrin from a single application of this material.

Kocher (cited by Spindler and Buxtorf 1953, and Müller and Spindler 1954) could find a significant rise of resistance, when a susceptible strain was selected during four generations with dieldrin. The resistance obtained by him through selection with dieldrin was of a multivalent nature and was evident also against other chlorinated hydrocarbons. Unfortunately, these laboratory findings in 1950 found a rapid confirmation in the field, since it was found in various localities of the Wallis, Switzerland, that soon after the first applications of dieldrin, it was impossible to control flies there with *any* of the chlorinated hydrocarbons.

Hansens (1953) recommended from 1950 to 1952 to use lindane and methoxychlor in dairy barns, because they killed flies faster and had a greater safety than chlordane and dieldrin. In 1952, a first application of dieldrin gave unsatisfactory fly control and a second application failed to give control. Flies from these barns were subsequently found to be highly resistant to dieldrin and other chlorinated hydrocarbons. It is most remarkable, though not very surprising, that « the most highly resistant strain to all insecticides had been produced in a barn (barn 13) sprayed 10 times in four years with dieldrin ».

Müller and Spindler (1954) expressed the apprehension, that the use of dieldrin in the fight against malaria might evoke resistance of a polyvalent nature whith anophelines, too. There is no indication at present, how far this conjecture is justified. If and when such a dieldrin-resistance should develop, one could expect it in those countries, in which resistant anophelines have made their appearance, as e.g. Greece.

In October 1954, Busvine (1954) reported his latest findings about resistance towards chlorinated hydrocarbons of housefly strains of diverse geographical areas (Uruguay, Sudan, Sardinia, England), as compared to a normal laboratory strain. All of them had developed highest resistance to alpha - and beta - chlordane, dieldrin and aldrin. Resistance to DDT ranged from a minimum of about 4,5 times normal to a maximum of 25 times normal, while resistance to dieldrin ranged from a minimum of times 28 normal to a maximum of times 600 normal.

SUMMARY

Reports about dieldrin-resistance in mosquitoes, cockroaches, houseflies (and ticks) have been reviewed. In houseflies, very high levels of resistance to dieldrin were encountered in the field, accompanied by cross-resistance to other chlorinated hydrocarbons.

RIASSUNTO

Vengono passati in rassegna i dati sulla resistenza al dieldrin in zanzare, blatte, mosche (e zecche). Nelle mosche si è verificata una elevata resistenza al dieldrin in campo pratico, accompagnata da resistenza crociata ed altri idrocarburi clorurati.

BIBLIOGRAPHY

ANON. (1953): Statens Skadedyrlaboratorium. Arsberetaing 1950-1951. Springforbi, 1953.

BRUCE W. N. (1951): Proceedings Sixth Annual Meeting, North Central Branch, American Association of Economic Entomologists, 1951. p. 18.

BRUCE W. N. (1952): Insects: The Yearbook of Agriculture. U.S.D.A., Washington, D. C., 1952. p. 320.

BRUCE W. N. and DECKER G. C. (1950): *Soap & Sanit. Chem., 26* (3), 122.

BRUCE W. N. and DECKER G. C. (1951): *Pest Control, 19* (4), 9.

BUSVINE J. R. (1951): *Nature, 168*, 193.

BUSVINE J. R. (1951a): Transactions of the IXth International Congress of Entomology, Amsterdam 1951. Vol. II, p. 335 (*Amsterdam 1952*).

BUSVINE J. R. (1953): *Nature, 171*, 118.

BUSVINE J. R. and HARRISON C. M. (1953): *Bull. Ent. Res., 44*, 729.

BUSVINE J. R. (1954): *Nature, 174*, 783.

CHAPMAN H. C., KELLER J. C. and LABRECQUE G. C. (1954): *Mosquito News, 14* (1), 1.

CORBO S. (1953): *Riv. Parassit., 14*, 55.

D'ALESSANDRO G., MARIANI M. and GAGLIANI M. (1952): *Riv. Parassit, 13*, 169.

DAVIDSON G. (1952): *Nature, 170*, 702.

DAVIDSON G. and BURNETT G. F. (1952): *Nature, 170*, 893.

DECKER G. C. and BRUCE W. N. (1951): *Soap & Sanit. Chem., 27* (6), 139.

DECKER G. C. and BRUCE W. N. (1952): *Am. J. Trop. Med. & Hyg., 1*, 396.

FARRAR M. D. (1953): *J. Econ. Ent., 46*, 172.

FAY R. W., STERNBURG R. L. and ERNST A. H. (1952): *J. Econ. Ent., 45*, 288.

FIEDLER O. G. H. (1952): *Onderstepoort J. Vet. Res., 25* (4), 65.

FISK F. W. and ISERT J. A. (1953): *J. Econ. Ent., 46*, 1059.

GILBERT I. H., COUCH M. D. and MCDUFFIE W. C. (1953): *J. Econ. Ent., 46*, 48.

GOODWIN WM. J. and SCHWARDT H. H. (1953): *J. Econ. Ent., 46*, 299.

GOODWIN - BAILEY K. F. and DAVIES M. (1952): *Nature, 173*, 217.

HADJINICOLAOU J. and HANSENS E. J. (1953): *J. Econ. Ent., 46*, 34.

HANSENS E. J. (1950): *J. Econ. Ent., 43*, 852.

HANSENS E. J. (1953): *J. Econ. Ent., 46*, 246.

HARRISON A. R. (1951): *N. Z. J. Sci Tech., 32-B* (6), 5.

HARRISON C. M. (1950): *Ann. Appl. Biol., 37*, 306.

HESS A. D. (1952): *Am. J. Trop. Med. & Hyg., 1*, 369.

HITCHCOCK L. F. (1953): *Aust. J. Agric. Res., 4* (3), 360.

KEIDING J. (1951): Transactions of the IXth International Congress of Entomology, Amsterdam 1951, vol. II, p. 340. (*Amsterdam 1952*).

KELLER J. C. and. CHAPMAN H. C. (1951): *Proc. New Jersey Mosquito Extermination Assoc., 38*, 54.

KELLER J. C. and. CHAPMAN H. C. (1952): *Proc. New Jersey Mosquito Extermination Assoc., 39*, 139.

KELLER J. C. and. CHAPMAN H. C. (1953): *J. Econ. Ent., 46*, 1004.

KING W. V. (1950): *J. Econ. Ent., 43*, 527.

KNIPLING E. F. (1950): *Soap & Sanit. Chem.*, Official Proceedings C.M.S.A. 37th Midyear Meeting, p. 87.

KNIPLING E. F. (1951): Proceedings Sixth Annual Meeting, North Central Branch, American Association of Economic Entomologists (1951), p. 20.

KOCHER C., ASCHER K. R. S., ROTH W. and TREBOUX J. (1954): unpublished manuscript.

LINDSAY D. R., STEWART W. H. and WATT J. (1953): *Publ. Hlth. Rep., 68* (4), 361.

MARCH R. B. and METCALF R. L. (1949): *J. Econ. Ent., 42* (6), 990.

MARCH R. B. and METCALF R. L. (1950): *Soap & Sanit. Chem., 26* (7), 121.

MISSIROLI A. (1951): *Riv. Parassit., 12*, 5.

MOSNA E. (1951): *Rend. Ist. Sup. Sanità, 14*, 563.

MÜLLER P. and. SPINDLER M. (1954): *Experientia, 10* (3), 91.

NEWMAN J. F. (1951): Transactions of the IXth International Congress of Entomology, Amsterdam 1951, vol. II, p. 331 (*Amsterdam 1952*).

PAL R. (1951): Report on the IXth International Congress of Entomology.

PIMENTEL D., SCHWARDT H. H., DEWEY J. E. and NORTON L. B. (1950): *Proceedings C.M.S.A., Dec. 1950*, p. 94.

PIMENTEL D., SCHWARDT H. H. and NORTON L. B. (1951): *Soap & Sanit. Chem., 27* (1), 102.

PIMENTEL D., SCHWARDT H. H. and DEWEY J. E. (1953): *J. Econ Ent., 46*, 295.

QUARTERMAN K. D. (1950): *C. D. C. Bull., 9* (11), 3.

QUARTERMAN K. D. and MATHIS M. (1952): *Am. J. Trop. Med. & Hyg., 1*, 1032.

SCHOOF H. F., SIVERLY R. E. and COFFEY J. H. (1951): *J. Econ. Ent., 44*, 503.

SPINDLER M. and BUXTORF A. (1953): 10 Jahre Geigy Schädlingsbekämpfung, Basel 1953, p. 82.

WILSON H. G., GAHAN J. B. and MCDUFFIE W. C. (1953): *J. Econ. Ent. 46*, 699.

YATES W. W. (1950): *Mosquito News, 10* (3), 132.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

RIVISTE SINTETICHE

ACAROLOGY - OR THE STUDY OF MITES (ACARINA)

CHARLES D. RADFORD

Introduction

The study of mites (or Acarology as this branch of science is termed) has interested a number of scientists throughout the past two hundred years, but has not been as popular as some of the other aspects of Zoology. Carl von Linne (1758) was the first person to make any serious attempt to arrange the animal kingdom in a true classification, giving to animals two names (binomial). Since Linnaeus' day the mites have been studied by several workers who, unfortunately, were able to devote only their leisure hours to these interesting and important creatures. Many of them are of such small size that they are difficult to see without a magnifying glass and their beauty has been overlooked. It is perhaps not surprising, therefore, that Acarology is only now assuming its proper position as a true science. At no college, university or school of tropical medicine is it possible at present to take a course of study in this subject, and the attention given to the mites in the curricula of these institutions is very meagre. Apart from scabies mites and some of the disease transmitting ticks no mention is made of them. No country in the world, nor any government has, heretofore, appointed a whole time Acarologist, and such knowledge as we now possess of the mites is due to the unitiring, voluntary studies carried out by amateurs, financed mainly from their meagre salaries as teachers, doctors or clerks. Deprived as they are of the modern scientific equipment which is so indispensable to efficient research, often lacking the facilities of a good library, and seldom possessing a well equipped laboratory, it is surprising that we possess such a good basis upon which to establish the science.

The mites are not only an interesting group of creatures on account of their great diversity of form, their systematics and the enormous number of species — estimated at between 15,000 and 20,000 — but they possess amongst their ranks a large number of species which have been proved to be the vectors (carriers) of disease to man, domesticated or wild animals and reptiles. The cultivation of food crops and their storage are subjected to attack by certain species of mites which annually cause damage to the extent of thousands of pounds.

Studies have been carried out by workers in most countries of the world and the results have been published in a diversity of journals — medical, veterinary, zoological, entomological, local scientific society transactions — printed in English, French, German, Latin, Italian, Portugese, Russian and Japanese. Some workers have not given detailed drawings of the many new genera and species which they have esta-

blished and often but briefly described, and it is not surprising that one finds many cases of synonymy. To appreciate thoroughly the problem which faces the Acarologist one should realise that the publication of descriptions of new genera and species in so many different languages imposes upon the worker the necessity of having an elementary knowledge of the main languages — Latin, English, French and German.

The amateur Acarologist has the further difficulty that he cannot be a subscriber to every scientific journal in which some author might publish a valuable piece of research — they are sometimes published in obscure journals — and is often not able no have the facilities of a really first class scientific library in his home town. Most of the acarological studies have, in the past, been concerned with the description of new genera and species or on the systematic arrangement of those already known. Some few workers have studied the morphology and only of recent years have we seen the medical research workers turning their attention to the important role played by certain mites in the transmission of disease.

The importance attached to the study of the Acarina has been stressed by Dr. Marc André of the Natural History Museum, Paris; by Prof. Ivar Tragardh of the Swedish Forestry Research Institute, and in two papers by the author in the Quarterly Liaison Bulletin of the Director General of Medical Services, Air Ministry.

In view of the present interest in the subject and the growing importance of mites from the medical and economic aspects it has been considered an opportune moment for the formation of the Societé Internationale d'Acarologie, and it is hoped et a later date to found an International research centre where, in properly equipped laboratories the subject can be taught.

Parasitism in the Acarina.

From the very earliest times mites have been found living in the nests of small mammals and birds.

Most of the genera of parasitic mites have been placed in the family *Laelaptidae* by virtue of their morphology. Mites of this family are, in the main, active creatures and are either oviparous or viviparous. The young mites, larvae or nymphs, are extremely active and, in searching for food might readily enter the nostrils, ears or mouth of their host in search of food. Finding conditions there suitable to their needs, it is throught possible that they have gradually become adapted to the new environment and so developed into endoparasites.

The majority of the *Laelaptinae* are lymph feeders in their larval or nymphal stages and haematophagous when adult. Parthenogenesis has been suggested for some species but later work has disproved the theory. In the free living external parasitic mites the dorsal and ventral shields (or scutae) are thickenings of the chitin, but in the internal parasitic forms these shields, when present, are often reduced in size and are only very weakly chitinized. The chelicerae of the *Laelaptinae* are provided with one or two teeth for cutting the skin of the host, whilst in the *Macronyssidae* (*Liponyssidae*) the chelicerae are mainly lancet or needle-like and dentition, if present, is very weak.

Mites of the family *Macronyssidae* are found as parasites of birds, small mammals and reptiles, whilst the larger mites of the sub-family *Laelaptinae* are found as parasites in the nests, or on the bodies of the Rodentia.

The snake mite (*Ophionyssus natricis* Gervais) is found upon snakes in most parts of the world. It is oviparous, the eggs being laid in the cracks of the snakes cage or in the soil of the snakes burrow. The mites attach themselves under the scales of the snake and remain there until engorged when they drop off and seek refuge in the soil. Snakes kept in captivity in zoos and laboratories are often found to be heavily parasitized by these mites and some considerable loss is attributed to their attacks. Camin (1948) has demonstrated the transmission of a haemogregarian parasite (*Proteus hydrophilus* (Sanarelli, 1891)) from snake to snake, by the mite, but only

« negative results were obtained in experiments designed to transmit the disease from snake to snake in the absence of the mites. Attempts to infect snakes by feeding with the bacteria orally were also unsuccessful ».

Bats are often found to be parasitized by mites of the families *Spinturnicidae*, *Macronyssidae* and *Myobiidae*, and occasionally by *Listrophoridae*.

The *Spinturnicidae* are large mites which are readily discernable as they move rapidly through the fur of the bat — they are viviparous. The author has examined a large amount of material taken from bats in several countries, but has failed to find any evidence of eggs, either in the tubes of mites or in situ in the body of the female mites. In a number of cases however, a nymph has been found in situ inside the female mite. The larval stage has not been recorded. The tarsal claws are exceptionally large and, in the genus *Ancystropus*, there are a number of strongly chitinized processes or spurs on the ventral surface of the first and second pairs of legs, which enable the mite to maintain a firmer hold of the hosts fur. The chelicerae of the female mite is long and slender, and possesses many small teeth.

EWING (1933) described a new species of mite (*Ophioptes tropicalis*) which he found inhabiting small shot-like pits in the scales of a snake. SAMBON (1928) who described this new genus *Ophioptes* does not mention them living in pits in the scales, but found them under the scales. The author has described (1946) another species of this genus which were found to be feeding under the scales. When disturbed they were exceptionally active and moved very rapidly over the body of the snake. Thorough examination of the snakes failed to reveal any trace of these shot-like holes referred to by EWING. Living in close association with these mites the author found another species of mite which is the type of the new genus *Ophidilaelaps*.

Changes in the morphological structure have taken place in the parasitic mites of the family *Pterygosomidae*, which live under the scales of lizards. In these mites the body is circular or triangular, flattened dorso-ventrally and, in most forms the body is covered with stout spines which are all directed backwards over the body of the mite. Their shape has enabled them to remain unobserved under the scales of the lizards and they are not easily removed by the movement of the host.

Mites of the family *Entonyssidae*, which have adapted themselves to an endo-parasitic habit, are found living in the air-sacs or lungs of snakes. Closely allied are the mites of the family *Pneumonyssidae*, which are to be found free-living or encapsulated in the lungs, tracheae or bronchia of species of Old World monkeys, where the whole life cycle is completed. In the sea lions and seals the endo-parasitic mites the family *Halarachnidae* are found in the nasal passages. These mites are more elongated, worm-like than any of the other mites and only weakly chitinized; the lung mites of monkeys are more sack-like and not so elongated as the *Halarachnidae*.

Among the mites which spend their whole life inside the host mention should be made of those which are found in the breathing tubes of the domestic fowl and in geese (*Cytolichus nudus*). These mites are, at times, present in such numbers that they cause respiratory troubles in the effected birds. Nostril inhabiting mites of other genera and species, closely akin morphologically, have been found parasitizing a number of birds.

In the mites of the families *Myobiidae* and *Listrophoridae* the parasitic habit has led to the development of highly specialized body structures which assist the mites to maintain a firmer grasp of the fur of the host animal. In the *Myobiidae* this is shown in the enormously large, claw-like process on the first pair of legs. Though some slight variation can be seen in this claw in the various species the claw is, in the main, closely similar in action to the thumb and forefinger of the human hand. The inner surfaces of this claw-like grasping organ is invariably grooved to add to its utility. The dorsum of the mite is provided with a number of posteriorly directed spines which enable the mite to retain its hold in the fur. The immature (larval and nymphal) stages of only a few species of the *Myobiidae* have been described, and for

a more detailed study one should consult the original literature cited. Suffice it to say that the specialized thumb-like organ is not completely developed in the immature mites and there are usually a number of small, peg-like processes on the capitulum which help the immature mite to retain its grasp on the fur of the animal. In the absence of the first pair of legs (in the larval stage) the head possesses a cowl-like process, the inner surface of which is grooved, and wraps round the fur, enabling the mite to make a forward or backward movement without releasing its hold.

In mites of the family *Listrophoridae* the method of progression through the fur of the host is simply up or down each hair - like rope climbing. The female mites have specialized development of the 3rd and 4th legs which they employ to grasp the hair. In the males there is usually a special hood or cowl-like process on the capitulum, round the palps, with which the mite grasps the hair. In the genus *Lynxacarus* the third and fourth legs of the male are hollowed internally and the tarsus is capable of being folded back upon itself to form a pincer-like process.

Mites.

Mites are, in the adult stage, small creatures with eight legs, allied to the spiders and scorpions in the class Arachnida.

They differ however, from the spiders in having no clear division of the body into a cephalothorax and abdomen. They vary in size from the smallest — less than 0.5 mm to the largest — approximately 1.5 to 2 mm.

Mites fall loosely into the following main groups:

Water mites	Hydrachnoidea
Beetle mites	Oribatoidea
Terrestrial mites	Parasitoidea
Scabies (Mange) mites	Sarcoptoidea
Ticks	Ixodoidea
Feather mites	Analgesidea
Plant mites	Eriophyidea and Tetrancychidea

In the first group there are hundreds of species — some of which are very ornamental and brightly coloured — and are to be found in rivers, streams, ponds and ditches some in sea water. The legs of many of these water mites are provided with fringes of long hairs which they employ as oars to help them swim. Their bodies are covered with a number of ornamental shields or plates which are used as characters for separating them into families, genera and species. Many species are very active, others just as sluggish. The six-legged larvae of certain genera are found as parasites attached to acquatic insects - attached to the legs and body of larvae of mosquitoes, etc.

The second group — Oribatoidea are small creatures with very strongly chitinized bodies. They can be found living under the bark of trees, in rotting wood, in heaps of dead leaves, in moss or lichen, if not too dry. They may be black, brown, or yellow in colour, and approximately the size of small cartridge shot. When disturbed they invariably retract their legs and curl up — by remaining motionless they often escape one's notice. They are mostly slow moving.

In the third group — Parasitoidea — there are a large number of forms — mostly free living and very active in their movements — although some genera are found as parasites of mammals, birds or reptiles. Some of these mites spend only a part of their life attached to the host, remaining attached only long enough to obtain a feed, dropping off when completely engorged. Others remain throughout their lives in the body of the host. Banks (1901) described a species of mite (*Pneumonyssus simicola*) which was found living in the lungs of a pig-tailed macaque (*Pithecus nemistrinus* L.). In the lungs of other monkeys (also a hyrax) different species of the genus *Pneumonyssus* have been found. *Pneumonyssus duttoni* Newstead & Todd, 1906

in a putty-nosed guenon (*Cercopithecus schmidti* Matschie); *Pneumonyssus congoensis* Ewing, 1929 in the Chacma baboon (*Papio porcarius* Bodd.); *Pneumonyssus stammeri* Vitzthum, 1930 in a brown woolley monkey (*Lagothrix infumatus* Spix); *Pneumonyssus dinolti* Oudemans, 1935 in Rhesus monkeys (*Macaca mulatta* Zimmerman); *Pneumonyssus procavians* Radford, 1938 in the lungs of a hoofed mammal (a hyrax) (*Procavia capensis* Pallas); and *Pneumonyssus caninum* Chandler & Ruhe, 1940 in the frontal sinus of a dog (*Canis familiaris* L.).

The *Pneumonyssidae* live in the lungs of their host causing lesions in the tissues, leading, in heavy infestation to the complete collapse of the lung. Monkeys living in captivity (laboratories and zoological gardens) are at times subject to acariasis and the mites are thought to be transmitted from animal to animal by the infected monkey coughing up small portions of lung tissue which is then ingested by the other inmates of its cage. Complete segregation of the infected or suspected monkey is the only method to prevent spread of the infection.

Mites of another family — *Entonyssidae* — are found as parasites in the lungs or air sacs of snakes and belong to one or other of the following genera — *Entonyssus*, *Ophiopneumicola* or *Hamertonia*. The type species of the genus *Entonyssus* (*E. halli* Ewing, 1922) was found in the lungs of a Pine snake (*Pithuophis melanolcucus* (Daudin) *Entonyssus rileyi* Ewing, 1924 in the Central American rattle snake (*Crotalus durissus durissus* L.); *Entonyssus glasmacheri* Vitzthum, 1935 in a Chicken snake (*Elaphe quadrivittatus quadrivittatus* Holbrook)); *Entonyssus ewingi* Hubbard, 1939 in the Western diamond rattle snake (*Crotatus atrox* Baird & Girard); *Entonyssus vitzthumi* Schmidt, 1940 in a Bull snake (*Pithuophis sayi sayi* (Schlege); *Entonyssus heterodontus* Keegan, 1943 in a Hog-nosed snake (*Heterodon contortrix contortrix* L.); *Entonyssus fragilis* Keegan, 1946 in a King snake (*Lampropeltis getulus getulus* (L.)); *Ophiopneumicola colubri* Hubbard, 1938 in the Coach-whip snake (*Coluber flagellum flavigularis* (Hallowell)); *Ophiopneumicola hamertoni* (Radford, 1939) in the North American garter snake (*Thamnophis sirtalis sirtalis* (L.)); *Ophiopneumicola elaphe* Keegan, 1943 in the Pilot black snake (*Elaphes obsoleta obsolcta* (Say)); *Ophiopneumicola natricis* Keegan, 1943 in a grass snake (*Natrix sipedon pictiventris* Cope); *Ophiopneumicola americana* Turk, 1947 in the Corn snake (*Elaphe guttata* (L.)); and *Hamertonia bedfordi* (Radford, 1937) in the Green Mamba (*Dendroaspis angusticeps* Smith).

Snakes are also the hosts of two other genera of mites, both of which are external parasites. Some species of the first are found living in small, shot-like holes or pits of the ventral scales — *Ophioptes parkeri* Sambon, 1928 was found on the Aesculapian snake (*Erythrolamprus aesculapii* L.); *Ophioptes oudemansi* Sambon, 1928 on the snake *Ctelia rustica* Cope; *Ophioptes tropicalis* Ewing, 1934, on the snake *Erpetodryas carinatus* werner; and *Ophioptes coluber* Radford, 1946 on the Copper headed rat-snake (*Coluber radiatus* Schlegel). In the case of the latter species, however, the mites were found living under the ventral scales of the snakes — the snakes were examined for the characteristic shot-like pits but could not be found.

Another genus of snake mite contains but two species — *Ophidilaelaps imphalensis* Radford, 1947 which was found on a Copper headed rat-snake (*Coluber radiatus* Schlegel) at Imphal. Manipur, India and the other species *Ophidilaelaps piger* (Berlese, 1918) found on snakes in Florence.

Snakes maintained in laboratories and zoological gardens are prone to attack by mites of yet another genus — *Ophionyssus* — a genus of mites which have only been recorded from snakes. Heavy mortality among the snakes is caused by infestation by *Ophionyssus natricis* (Gervais, 1884 syn. *Leiognathus serpentium* Hirst, 1915). The life cycle of mites has been studied by SCHROEDER (1939) FONSECA (1948) and the author.

The adult female mite lays from 7 to 30 eggs which have an incubation period of from 5 to 8 days at a room temperature of 58°F.; the egg case splits lengthwise and the six-legged larval mite moults to the eight-legged nymph in from 3 to 5 days

— during this period it does not feed. The proto-nymph moults to a deuto-nymph in about 3 to 4 days, and from 7 to 8 days later becomes the adult. The adult female feeds on the reptilian host and, after mating, increases considerably in size. Wiping or painting the snakes with a Gammexane solution has been found to kill the snakes, but benzyl-benzoate painted on one day and washed off 24 hours later is effective in killing the mites. Another remedy which has been found effective is the immersion of the snake for a few seconds in Rotenone — in the dose recommended by the makers. As oviposition appears to take place in the cracks or crevices, or the sand on the case bottom, the only certain remedy is to sterilize the case completely before returning the snakes to it. *Ophionyssus easti* Ewing, 1925 was found upon a lizard (*Sceloporus graciosus graciosus* (Baird & Girard)).

Reichenow (1913 and 1917) has shown that fertilized female mites *Neoliponyssus saurarum* (Oudemans, 1901) which are parasites of the lizards (Lacertilia) act as an intermediate host for the protozoal infection of the lizards by *Karyolysus lacertarum* (Danilewsky).

Some interesting mites which are found under the scales of lizards are those of the genera *Pterygosoma, Geckobia, Zonurobia, Ixodiderma, Scaphothrix, Geckobiella, Hirstiella* and *Pimeliaphiloides* which are mainly circular or triangular in shape, considerably flattened, and covered with a large number of spines. On account of their flattened bodies they are particularly adapted for living under the scales of lizards. Numbers of them are to be found under each scale, the end of their bodies being visible beyond the free end of the scale. Over 70 different species of these lizard mites (*Pterygosomidae*) have already been described by Peters, Hirst, Lawrence, Womersley, Tragardh and Vitzthum.

Amongst the parasitic forms of mites mention must be made of the family *Macronyssidae* (*Liponyssidae*) as a number of them have been found to be the carriers (vectors) of disease to man, domestic and wild animals, birds and reptiles. Chief among them is the tropical rat mite (*Bdellonyssus bacoti* (Hirst, 1913) syn. *Liponyssus bacoti* Hirst, 1913).

Hirst (1914) recorded this mite attacking man and again (1925) reports further accounts of its attacks on man in Natal and Pretoria. Bishopp (1923) reported that in the commercial districts of Texas *Bdellonyssus bacoti* was found to have invaded entire buildings (even to the height of the tenth floor) where its attacks on the occupants caused painful bites, setting up irritation and a haemorrhagic area round the bite. The bites were made by nymphs and adult mites, generally on the tender skin particularly under the belt or where there was any constriction of the clothing.

The Veterinary Research Officer, Pretoria (the late G. A. H. Bedford sent specimens of this mite to the author in 1936/37 reporting the invasion of a store at Durban where it was attacking the occupants (14th Sept 1935). From Uganda, specimens of this mite were received — taken at Kuwada in September 1939 — which were reported to be attacking men in the servants quarters.

Whilst working at Colombo (1944) the author received specimens of *Bdellonyssus bacoti* (Hirst, 1913) from Dr. D. N. Roy, Entomologist at the Calcutta School of Tropical Medicine, with the report that they were infesting a house and attacking the human occupants — apparently the source of infestation in this case being the pigeons which were nesting in the roof of the house.

Maxcy (1929) expressed the opinion that *Rickettsia mooseri* Monteiro, 1931 was transmitted by this mite, whilst Shelmire and Dove (1931) records 200 cases of man being subject to attacks from this mite, the bites causing papular or urticarial reactions and sometimes with a secondary infection. The simultaneous appearance of typhus and « rat-mite dermatitis » in Texas give the authors strong grounds for the belief that *Bdellonyssus bacoti* transmits rickettisiosis. If the experimental transmission of *Rickettsia mooseri* by *B. bacoti* is possible, it opens up interesting problems in public health. Netter (1913) suggested that *Bdellonyssus bacoti* is a possible agent in the transmission of another infection (Brills disease) whilst Pang (1941); Liu (1944 and

1947) claimed to have recovered strains of Rickettsiae from the mite, *Bdellonyssus bacoti*.

That attacks on man by this mite are fairly universal is evinced by OUDEMANS (1931) who reports it in Europe; from St. Louis, U.S.A. where in was reported by MC INTOSH (1935); from Hamburg by WILLMANN (1939) where the attacks took place in 1936/37 and earlier attacks were reported from Bremen in 1930. SPENCER (1937) has recorded the mite invading houses in Canada, and in Minnesota attacks were reported by RILEY (1940). The mite has not neglected the stocks of laboratory mice, rats and hamsters as is shown by the reports of HESTON (1941); OLSON, MAJOR & DAHMS (1946). HESTON refers to the condition in laboratory mice where the attacks by mites led to the appearance in the laboratory animals of rough coats, poor health and a scabby skin. OLSON and his co-workers quote the high figure of 20,000 mites parasitizing one animal at Fort Houston, Texas. The amount of blood which the animal lost must have been enormous and it is small wonder that the mortality rate amongst the stocks of laboratory animals was so high.

Cotton rats (*Sigmodon*) are subjected to infection by a filariid worm (*Litomosoides carinii* (Trav. 1919)) as has been shown in the reports of WILLIAMS & BROWN (1945) and BERTRAM, UNSWORTH & GORDON (1946) working with the American cotton rat (*Sigmodon hispidus hispidus* Say & Ord). This filariid worm is transmitted from rat to rat by the mite *Bdellonyssus bacoti*.

A closely related mite (*Bdellonyssus bursa* (Berlese, 1888)) (*Leiognathus bursa* Berlese, 1888) — the tropical fowl mite — is regarded as a serious menace to the poultry industry in America and its economic importance should not be overlooked. It was introduced into the U.S.A. and its spread is attributed to the English sparrow (*Passer domesticus* L.).

Another mite of importance, *Bdellonyssus nagayoi* (*) (Yamada, 1930) was found as a parasite of rats in Tokyo and it was reported to have invaded houses causing considerable trouble to the human occupants, and bringing about vesicular dermatitis (MORISHITA & OHMORI, 1923). Attempts were made by MORISHITA (1938) using protonymphs and adults of *Bdellonyssus nagayoi* to transmit experimentally (by bite) the parasite *Treponema* (*Borrelia*) *duttoni* Novy & Knapp, 1906 — but without success. YAMADA (1930) has shown that this mite can be the carrier of plague (*Pasteurella pestis* Kitasato: Yershin, 1894) it being shown experimentally that transmission of the disease from infected mites was possible by bite; by injecting the macerated mites into laboratory animals aud by the mites when eaten by the animals.

Working in Italy, GONDAR (1910) found that a closely related mite *Hirstionyssus arcuatus* (Koch, 1835) (*Liponyssus arcuatus* Koch, 1835) was a parasite of bats and that the mites had an infection of the gut by flagellar forms of the flagellate (*Schizotrypanum vespertilionis* Bataglia). The flagellate is contained in the peripheral blood of the bats and the gut infection was present only in those mites which were parasitic on the infected bats.

FRANCHINI (1921) reports finding a mite (*Leiognathus laverani* sp. n.) on bats (*Pipistrellus pipistrellus* Schreber) near Bologna, Italy. Thirty per cent of the mites were found to be infected with leishmania, leptomonad, crithidia and trypanosome stages, and thirty per cent of the bats were infected by *Schizotrypanum*. From this FRANCHINI concluded that the mites were the carriers of the trypanosomes from bat to bat which serves to confirm the earlier beliefs of GONDAR. Later studies by MANWELL & JOHNSON (1913) and by MACFIE & THOMPSON (1931) suggests that a trypanosome of the canary (*Serinus canarius* Koch) is transmitted by the red mite (*Dermanyssus gallinae* Redi 1674). Recent work conducted in the U.S.A. by REEVES, HAMMON, FURMAN, MC CLURE & BROOKMAN (1947) has shown that the mite *Leiognathus sylvia-*

(*)) *B. nagayoi* (Yamada, 1930) is a synonym of *B. bacoti* (Hirst, 1931).

rum Canestrini & Fazango, 1877 is the possible carrier of Western equine encephalomyelitis. The macerated bodies of 250 mites was used as an inoculum for injection into laboratory white mice — the mice died within 3 to 6 days after inoculation and the symptoms were those of encephalitis. After three serial passages in mice identification was undertaken. Of the four viruses present, three were found to be those of western equine encephalo-myelitis and these wese checked by inoculation into immune guinea-pigs. GREENBERG, PELLITTERI & JELLISON (1947) have shown that rickettsial pox (*Rickettsia akari*) is transmitted by *Allodermanyssus sanguineus* (Hirst) a mite parasitic on the house mouse (*Mus musculus musculus* L.).

CAMIN (1948) has shown that a haemorrhagic septicaemia of snakes is caused by a gram negative rod-shaped bacterium (*Proteus hydrophilus* (Sanarelli)) which is transmitted by the snake mite *Ophionyssus natricis* Gervais, 1844 (*Liponyssus serpentium* Hirst).

Some of the genera of mites in this group — PARASITOIDEA — are to be found parasitic on beetles (Coleoptera) others are found living in the nests of bees and ants. Ants are also parasitized by mites of the families *Antennophoridae* and *Scutacaridae*. The size of these mites can be estimated when it is remembered that a single ant may carry as many as 6 to 12 of these mites attached to its body. Bees of the genus *Koptorthostoma* possess an apron-like pocket on the abdomen and this cavity is inhabited by mites of the genus *Dinogamasus*. The wild bees (*Bombus terrestris* L.) often carry the nymphs of *Parasitus fucorum* Degeer, 1778 and *Scutacarus acarorum* Goeze, 1780. One bee may carry as many as 50 to 80 of the nymphs of *Parasitus fucorum* plus a number of *Scutacarus acarorum*.

The mite *Podapolipus reconditus* Rovelli & Grassi, 1888 is found as a parasite of locusts (taken in Italy on *Locusta migratoria;* in Java and Australia it is found on other species of locusts). Other genera of the family *Podapolipodidae* have been established for a number of forms taken from locusts in various countries. These mites are of unusual appearance as they are of a primitive type and possess only the first two pair of legs, the third and fourth pairs being aberrant.

The scaly ant-bear *Smutsia temminckii* (Smuts) is parasitized by mites of the genus *Manitherionyssus* (*Manisicola* Lawrence, 1939). VITZTHUM, 1925 described a new species of mite — *Liponyssus heterotarsus* — for which he proposed the new generic name *Manitherionyssus*.

LAWRENCE (1939) discovered a new species on the type host to which he gave the name *Manisicola africana* Lawrence, 1939 — being unaware of the earlier work of VITZTHUM — the two species appear to be valid, though it is singular that two species of this new genus should be present on the same type host.

Often bats are parasitized by mites which belong to four or five different genera — the large mites of the family *Spinturnicidae* and *Macronyssidae*, the smaller, fur-mites of the families *Myobiidae* and *Listrophoridae*, and the *Sarcoptidae* or mange-mites. The *Spinturnicidae* and *Macronyssidae* are blood sucking (haematophagous) mites and, as has already been stated, are suspected of carrying disease organisms from bat to bat. The *Myobiidae* and *Listrophoridae* however, feed at the roots of the hairs and apparently live upon the secretions of the hair follicles. Owing to the peculiar formation of their legs — which are curved, hook-like grasping organs — it is not easy for them to move through the fur of the host, and they can be seen crawling up or down the hair to which they are attached. In colour these fur-mites are pale or greyish, they are slow moving and have elongated, flattened bodies. In the *Myobiidae* the first pair of legs is composed of a stout claw and several apposed plates or thumb-like processes between which the hair of the host is firmly grasped. The other legs are normal and may be terminated with one or two claws. The chelicerae are long and stiletto-like. The *Listrophoridae* are elongated and have the first two pairs of legs — in some genera the third and fourth pair of legs — adapted for grasping the hair of the host. Some genera have also a grasping organ attached to the capitulum.

In the next group SARCOPTOIDEA there are a large number of species. The most widely known species is perhaps *Sarcoptes scabiei* Degeer, which is a sub-cutaneous parasite of man that causes the skin disease « scabies ». A large number of species of this genus have been described from many domestic and wild animals, and they have been found in every country. There is no appreciable difference in any of these so-called species and the author is convinced that though there may be biological races, they are all morphologically the same. Mange in animals varies according to the genus of mites which cause it. Psoroptic scab in sheap is caused by the mite *Psoroptes communis* var. *ovis*. Cats are sometimes affected by mange caused by *Notoedres cati* Hering, 1838 whilst rats are attacked by the closely related species *Notoedres muris* Megnin, 1880. Rabbits and ferrets are found to carry a mange mite in the ears — *Otodectes cynotis* Hering, 1838. A closely related mite genus *Psoroptes* — containing five species are found upon various animals *Psoroptes bovis* Gerlach, 1857 on cattle; *P. cuniculi* Delafond, 1859 on the rabbit; *P. equi* Hering, 1838 on horses; *P. gazellae* Canestrini, 1894 on gazelles and *P. ovis* Hering, 1838 has been taken on sheep.

Poultry are subject to the attacks of a closely related mite, *Cnemidocoptes mutans* (Robin, 1860) a small, almost circular mite which burrows beneath the scales of the feet and legs, and is responsible for the disease known as « scaly leg » in which the scales are raised and there is generally much swelling and pus. Closely related to these scaly-leg mites are small, circular mites *Psorergates simplex* Tyrrell, 1883 which are found living in small cysts under the skin of mice (*Mus musculus musculus* L.).

A closely similar species has been found on sheep in Australia (*Psororergates ovis* Womersley, 19). Two species of sarcoptic mites have been reported as internal parasites of the domestic fowl, and occur in the respiratory organs of their hosts. These are *Cytoleichus nudus* Vizioli and *Laminosioptes cysticola* Vizioli.

A number of species of birds have been found to be parasitized by mites of the genus *Harpyrynchus*, which live under the skin — mainly under the wings. — The skylark (*Alauda arvensis* L.) has been found to carry the mite *Harpyrychus nidulans* Nitzsch, 1818; *H. crista-galli* Berlese & Trouessart 1889 is found on the mouse-bird (*Colius striatus Gm.*); *H. holopus* Berlese & Trouessart, 1889 in foud on the house sparrow (*Passer domesticus* L.) also *H. pilirostris* Berlese & Trouessart, 1889; *H. longipili* Banks, 1904 is recorded from the crossbill (*Loxia sp.*). A species of the genus — *H. tabescentium* (Berthold, 1845) is found as a parasite of man.

Seals and sea lions are not free from the attacks of mites — the genus *Halarachne* possessing a number of species. Recently (1947) NEWELL has revised this genus and established the new genus *Orthohalarachne* to include a number of these mites The Halarachnidae are elongated, worm-like in shape, the four pairs of legs being borne on the anterior third of the body. The mites are to be found in the nostrils of their hosts. *Halarachne halichoeri* Allman, 1847 was taken from the seal *Halichoerus grypus* Fabricius; *Halarachne americana* Banks, 1899 from *Monachus tropicalis* Gray; *H. mirounga*e Ferris, 1925 has been taken from *Mirounga angustirostris* (Gill); and *Halarachne sp.* Blanchard, 1906 taken form Weddells seal (*Leptonychotes weddelli* Allen).

Orthohalarachne attenuata (Banks, 1910) was taken from a seal pup; *O. zalophi* (Oudemans, 1916) from the Californian sea lion (*Zalophus californianus* (Lesson)); *O. rosmari* Oudemans, 1916 from a walrus (*Odobenus rosmarus* (L)); *O. megallanica* (Finnegan, 1934) from the Southern sea lion (*Otaria byronia* (de Blainville); *O. reflexa* (Tubb, 1937) from the Tasmanian sea bear, and *Orthohalarachne diminuata* (Doetschman, 1944) from the Californian sea lion (*Zalophus californianus* (Lesson)).

A large family of mites — *Rhinonyssidae* — is found as parasites in the nostrils of various species of birds. Twentyone species of these mites have already been described amongst which may be mentioned *Sternostomum rhinolethrum* Trouessart, 1895 taken from the goose (*Anser anser* L.); *S. caledonicum* Hirst, 1921 from the

black guillemot (*Uria grylle* L.); *S. waterstoni* Hirst, 1921 from the razorbill (*Alca torda* L.); *Sternostoma cryptorhynchum* Berlese & Trouessart, 1899 also *Ptilonyssus nudus* Berlese & Trouessart, 1889 from the house sparrow (*Passer domesticus* L.); *Rhinonyssus neglectus* Hirst, 1921 from the purple sandpiper (*Calidris maritima* Brunnich); *Ptilonyssus echinatus* Berlese & Trouessart, 1889 from the swallow (*Hirundo rustica rustica* L.). STRANDTMANN (1948) has described two new species of nostril mites for which he has established new genera. *Rallinyssus caudistigmus* found in the nostrils of the coot (*Fulica americana* Gmelin), and *Larinyssus orbicularis* which was taken from the Royal Tern (*Sterna maxima* Bodd).

Whilst making a study of the parasites of the starling (*Sturnus vulgaris* L.) in the U.S.A., Dr. ELIZABETH M. BOYD (1948) found a species of mite living in the respiratory tracts of the birds. The mite *Speleognathus sturni* Boyd, 1948 has also been found by the present author in the respiratory tract of four species of Indian birds - the Pied Mynah (*Sternopastor contra* L.); the Grey-headed Mynah (*Sturnus malabarica* Gmelin); the Red-vented Bulbul (*Molpastes cafer* L.); and the Pied Bush-chat (*Saxicola caprata* L.). As far as is at present known this species of endo-parasitic nostril mite is recorded only from birds of the family *Sturnidae*. BOYD (1949) has recorded a new genus and species of mite (*Turbinoptes strandtmanni*) taken from the nostrils of the Ring-billed gull (*Larus delawarensis* Ord) which she has placed in the Psoroptidae group.

Hive bees (*Apis mellifica* L.) in England, France and Switzerland are sometimes afflicted by the "Isle of Wight" bee disease which causes them to lose the power of flight — the infected bees being known as crawlers. This disease is the result of parasitism by very small mites — *Acarapis woodi* (*Rennie*, 1921) which inhabit the tracheae. The female mite lives in the tracheae of the bee where she lays her eggs, these hatch and the breathing tubes of the host soon become congested by these mites. In Germany two species of this genus (*Acarapis externus* and *Acarapis dorsalis* Morganthaler) occur as external parasites of the hive bee, but have not been found as internal parasites in the tracheae, and do not apparently have any injurious effect on the bees.

In the next group — the ticks or IXODOIDEA — there are a large number of species scattered throughout the world, living as parasites of mammals, birds and reptiles — many are known to transmit disease and, as they are all blood feeders are potential carriers of disease. Many of these ticks remain attached to the host throughout their life cycle, others remain only whilst feeding, and when completely engorged drop to the ground to lay their eggs. Some ticks spend their whole life on the same host. The winter tick (*Dermacentor albipictus* Packard) is a typical one host tick — the larval and nymphal moults are passed whilst still attached to the host — it has been recorded from horses, cattle, moose and the elk. Most of the ticks leave the host after feeding and moult to the next stage, when they again attach to the same type host or a different one for further feeding. Some species are two or three host specie — *Amblyomma maculatum* Koch is a three host tick. The larvae and nymphs are found on birds or small mammals whilst the adults are taken from horses, mules or cattle.

The ticks are divided into two main sections — the *Argasidae* or soft-bodied, and the *Ixodidae* or shielded (hard-bodied) ticks. In the first the body is not ornamented with shields and there is very little difference in appearance between the sexes. In the latter, the dorsal surface of the male is completely covered by a shield made of chitin, whilst the female body is mainly soft and pliable with a chitinized shield on the anterior end of the dorsum. This of course allows for the enormous expansion of the body when the female is completely engorged and ready to oviposit.

The number of eggs which a tick lays varies considerably from species to species, ranging from hundreds in some, to 25,000 or 30,000 in others. MORGAN has recorded *Amblyomma americanum* L. depositing 6, 519 eggs. whilst HOOKER records the figure of 11,265 eggs for the Gulf Coast tick *Amblyomma maculatum* Koch. When the eggs hatch the larvae are intent on finding a suitable host on which to feed. This may necessitate climbing up bushes, grass tufts or tree stumps and waiting an

opportunity to attach to some passing host. In the case of the spinose ear tick *Ornithodoros megnini* Meigen the larvae climb to a vantage point which is approximately the height of a cows ears when the animal is grazing. If they do not readily find a suitable host they are able to live for a considerable period without food. Nymphs and adults of some species have lived 250 days in the absence of food, whilst experiments conducted in the laboratory show that some species may even live for 300 days without feeding. When once a suitable host has been found they feed copiously and their body size increases considerably. The larvae may moult through two or three nymphal stages before becoming adult and increase in size with each moult. The enormous increase in size of the adult may be appreciated when it is remembered that the female of *Ixodes ricinus* L. has been shown to change its weight by as much as 225 times. An American cattle tick (*Boophilus annulatus* Say) during its life cycle of three weeks — from nymph to adult — increased its weight by 10,000 times.

Many diseases have been transmitted by ticks and in some countrie they cause thousands of pounds worth of damage yearly by their attacks on domestic animals. Tularaemia has been transmitted by the rabbit tick *Haemaphysalis leporis palustris* (Packard), also by *Ornithodoros lahorensis* Neuman. *Spirochaeta hispanica* has been shown to be transmitted by another species — *Ornithodoros erraticus* (Lucas), whilst the species *Ornithodoros hermsi* Wheeler has been found to be the vector of relapsing fever. *Ornithodoros turicata* Duges was shown to transmit Rickettsia. The well known Rocky Mountain spotted fever is transmitted by the tick *Dermacentor andersoni* Stiles. In Brazil this fever is conveyed by the Cayenne tick *Amblyomma cajennense* (Fabricius).

Dermacentor andersoni has also been shown to transmit tularaemia, American "Q" fever and equine encephalo-myelitis (experimentally). Heartwater, a disease of cattle is spread by *Amblyomma hebraeum* Koch, and the causative organism of American "Q" fever (*Rickettsia diaporica*) is transmitted by a closely related species (*Amblyomma americanum* L.) in Liberty County, Texas.

One of the typhus group of fevers (casual organism *Rickettsia burneti*) has been transmitted by *Haemaphysalis birmaniae* Supino (- *H. bispinosa*) and the tick *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago transmits equine nuttalliasis. Typhus fever has been carried by the dog tick *Haemaphysalis leachi* Audouin, and encephalitis is transmitted by *Ixodes persulcatus*.

Spirochaeta gallinarum is known to be carried by the tick *Argas persicus* Oken to poultry. The tick *Ornithodoros moubata* (Murray) is the acknowledged vector of South African relapsing fever (*Borrelia duttoni*) also of a trypanosome.

Birds are often heavily infested by mites of family *Analgesidae* which may live inside the quill of the feathers, as for instance *Syringobia chelopus* Trouessart & Neumann, 1888 which has been recorded from the Redshank (*Tringa totanus* (L), and *Syringophilus bipectinatus* Heller, 1880 which lives inside the quills of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). Other species live in the barbs or web of the feathers eating the broken down quill tissue. A feature of some of these mites is that they are found only upon birds of the same family, being almost host specific — *Gabucinia delibata* (Robin, 1887) which is found on birds of the family Corvidae. Or *Oustaletia pegasus* Trouessart, 1885 which is found on hornbills (*Bucerotidae*).

In the family *Analgesidae* there are many genera and species, they are mainly of small size, and often adorned by spines of ornate shape, or by hyaline appendages at the posterior end of the body. There is often a considerable difference between the shape of the male and female (dimorphism) but in some species the two sexes are closely similar. These feather mites do not appear to be injurious to, or worry the bird and can be dismissed from the list of potenzial disease carriers on account of their feeding habits and the type of mouth parts (chelicerae) which they possess.

Plant mites — the families *Eriophidae* and *Phyllocoptidae; Tetranychidae* and *Tarsonemidae* — are the cause of a number of diseases among horticultural and agricultural plants. « Big bud » of fruit bushes and trees is the name given to the characteristic swelling of young buds attacked by these mites (*Eriophidae*). Attacks

by mites of the family *Tetranychidae* are responsible for thousands of pounds worth of damage annually. *Tarsonemus spinipes* Hirst, 1912 — which is a synonym of *T. bancrofti* — causes considerable damage to the cultivation of sugar cane in the West Indies; *T. spirifex* Marchal, 1902 attacks oats; *T. bancrofti* Michael, 1890 causes considerable damage to sugar growing projects in Queensland; *T. ananas* Tryon, 1908 causes damage to cultivated pineapples in Australia. *Stigmacus floridanus* Banks attacks the bases of the imbricated leaves of pineapples, thereby enabling injurious fungi to gain access to the leaf tissues and causes considerable damage. Another plant pest is *Bryobia praetiosa* Koch, 1836 — the « clover mite » — which is injurious to fruit trees in the western U.S.A. « Red spiders — *Tetranychus bimaculatus* Harvey, 1892 — is a serious pest in the cultivation of oranges and cotton; whilst in Canada and New Jersey the leaves of fruit trees often suffer from the attacks of *Metatetranychus ulmi* (Koch, 1836) (*Tetranychus pilosus* Canestrini & Fazzango, 1876). These mites are very prolific — an adult *Tetranychus* may lay from 5 to 10 eggs daily for a period of 8 to 12 days; 3 to 5 days later the young mites hatch out and become adult in a further 5 days. They lay a succession of eggs throughout the summer.

Mites of the family *Tarsonemidae* often are serious pests to agricultural and horticultural produce. *Tarsonemus oryzae* Canestrini damages rice in Italy; *Tarsonemus pallidus* Banks, 1898 attacks various plants and is the cause of great damage to the cultivation of flowers. *Tarsonemus waitei* Banks, 1912 causes considerable loss by attacking the terminal growing shoots of peach trees.

Dermatitis and allied skin affection are known to be due to the attacks by mites of the family *Tyroglyphidae*. « Copra itch » has been shown to be caused by the mite *Tyroglyphus longior* var *castellani* Hirst, and *Carpoglyphus passularum* (Hering, 1838) has been recorded as the cause of skin eruption. Dermatitis has been shown to be caused by the mite *Chyletiella parasitivorax* Megnin, 1878 which normally is a predatory species living in the fur of the rabbit and feeding upon the *Listrophoridae* (fur mites). Dermatitis has also been caused by *T. longior* var *castellani* and by *Pyemotes ventricosus* (Newport,) (*Pediculoides ventricosus* Newport).

Research carried out by STUNKARD (1937) has shown that certain species of *Oribatidae* (*Galumna sp.*) act as the intermediate host for the sheep and tape worm (*Moniezia expansa* (Rudolphi)) which is a parasite of cattle, sheep and goats. The tape worm eggs are eaten by the mites and development takes place in the mites during the ensuing 4 to 5 months. The mites are then eaten by the sheep or cattle and so the infection is transmitted. The presence of these mites is an essential link in the life cycle of the tape worm. KRULL (1939) reported the results of his experiments with the sheep tape worm and the mite *Galumna emarginata*. STOLL (1938) carried out investigations in which the mite *Galumna nigra* was the intermediate host for the transmission of this worm. POTEMKINA (1941) working in Russia, found that *Galumna obvius* Berlese, 1913 and *Scheloribates laevigatus* (Koch, 1836) were the intermediate hosts for *Moniezia expansa* (Rudolphi) and *Moniezia benedeni* (Moniez). CHAUHAN, working on the sheep tape worm problem in India found that the intermediate host was an oribatid mite to which BAKER (1945) gave the name *Scheloribates chauhani*.

RUNKEL & KATES (1947) reported that several thousand oribatid mites of various species were collected from the experimental plot — which had not been grazed by sheep for 4 years prior to the experiment — and no cysticercoides of the tape worm were found in the dissected mites. After the plot had been grazed by sheep the oribatid mites were collected and, on being dissected cysticercoides were removed from thousands of mites. Cysticercoids from the mites (*Protoscheloribates seghetti* Runkel & Kates, 1947) were fed to parasite-free lambs and resulted in each case in infection with *Moniezia expansa*. The infestation rate in the mites examined was in the region of 6 per cent - from 1 to 3 cysticercoids being found in each infected mite.

Scrub typhus (Tsutsugamushi, Kedani or Japanese river fever) is a rickettsial disease which is transmitted from infected rat to man by the bites of larvae of the

family *Trombiculidae*. The disease was first studied by NAGAYO et al. (1919/21). An unknown fever was present in the Negata Prefecture of Japan and NAGAYO and his co-workers studied it and wrote extensively on the life histories of a number of species of *Trombicula* which were the suspected vectors of this river fever. *Trombicula akamushi* (Brumpt, 1910) has been shown to be the vector species in Japan, and further studies were later carried out in Japan, Formosa by other Japanese workers. The disease was of sporadic appearance throughout the Far East and isolated reports appeared from China, Ceylon, Malaya, Indo China, etc., but it never assumed the proportions of an epidemic, the largest outbreaks having been reported from the rubber plantation of Malaya (GATER, 1932; FLETCHER, LESSLAR & LEWTHWAITE, 1928). These outbreaks occurred in rubber plantations that had been allowed to become overgrown with undergrowth during the slump years, and it was during efforts to clean up the plantations later that the coolie labour got infected. The thick undergrowth between the rubber trees provided the rats with optimum conditions for feeding and breeding and the mites had ideal conditions for spreading. Further investigations (WALCH, 1923; WALCH & KEUKENSCHRIJVER, 1924) have shown that a closely related species *Trombicula deliensis* Walch, 1923 is the vector species for transmission of scrub typhus in Malaya, Java & Sumatra.
— During these investigations some experiments were conducted to follow the life histories of these larvae but the results were not always successful, and little fresh information was obtained

Prior to 1946 only some twelve species of these mites had been reared successfully to their nymphal or adult stage. In the recent war (1939/45) necessitating, as it did, campaigns in the jungles of Burma and the South West Pacific islands, our troops were subjected to the attacks of these small larval mites and outbreaks of scrub typhus were reported. This led the Australian Army authorities to send teams of doctors and entomologists (COOK, ENGLISH, MCCULLOCH, SOUTHCOTT, etc.) to investigate these outbreaks. The American forces on Bat Island, New Guinea and Finchaven also reported outbreaks and a team of workers (PHILIP, KOHLS, MAXCY, ARMBRUST, BUSHLAND, WHARTON, etc.) were sent to wark in these areas. An outbreak of scrub typhus in Ceylon amongst the East African brigade undergoing jungle training led the War Office and Medical Research Council to organize a team comprising Service and Civilian scientists (LEWTHWAITE, MELLANBY, BROWNING, RADFORD, AUDY, BULLOCK THOMAS, KALRA) to tackle the problem in South East Asia. Further outbreaks were reported from Assam and India. The American Army, operating in Burma had reported outbreaks of the disease amongst their troops in the Ledo Road area, and a team from the U.S.A. (KOHLS, FULLER, TRAUB, MILLSPAUGH, JELLISON) were sent out to investigate and were based on Myitkyina. From the combined reports of all these teams much useful information has been obtained on the larval mites and a measure of success was achieved in the study of life cycles. This led to increasing the knowledge of the adult and nymphal stages of other species of *Trombiculidae*. The author was successful in rearing the nymph of *Trombicula deliensis* Walch and establishing the identity of the adult which until then was unknown. This work was subsequently confirmed by WHARTON. The vector species for transmission of scrub typhus in Burma, Assam, Manipur, India, Ceylon — the islands of the Indian Ocean — and the islands of the South West Pacific, has been shown to be *Trombicula deliensis* Walch, 1923. A number of the American workers are now of the opinion that this is only a variety of *Trombicula akamushi* Brumpt.

KALRA (1947) — in correspondence to the author — has stated that, by inoculation into laboratory animals, successfully shown that *Rickettsia tsutsugamushi* (Hayashi, 1920) can be transmitted by another larval mite (*Schongastiella ligula* Radford, 1946).

The combined efforts of the American, Australian and M.R.C. teams of workers has led to the successful rearing of nymphs of some 20 species, and 23 species are now known in their adult stage.

Technique.

For the critical examination of mites there are many different techniques, each worker favouring his or her own particular methods. Quite a number of the older text books on microscopy recommend clearing specimens by boiling in hydrochloric acid or caustic potash, then passing the specimens into water to remove the potash. They are then passed through successive washings in 25, 50 and 75 per cent alcool to dehydrate them before being mounted on glass slides in Canada Balsam or glycerine.

The author adopted this method in the earlier days but later preferred to use « Euparal », changing later to the use of Gum Chloral (De Faures) as mountants. The use of KOH was found to be too drastic for most of the mites which have bodies not heavily chitinized. Clove Oil and Glacial Acetic Acid have been tried as clearing agents, but it was later found that for most of the Acarina the best clearing agent was hot Lactic Acid.

The mites are placed in 1½ square glass staining cells (glass blocks — cavity ground) with a small quantity of lactic acid, the glass lid is placed in position and the cell warmed on electric hot plate. The heating should be continued until the specimens are cleared. The actual length of time necessary for this process will be found by practice — in some specimens the body contents may require slight pressure with a setting needle to complete the clearing.

Stains. Acid Fuchsin or Orange G are good stains for mites and to save time the stain is added to the lactic acid before heating the cell. When using Gum Chloral as a mountant it was found that crystallization frequently developed in the preparation after the lapse of time. To prevent this it was found that if the specimens were washed in water after clearing the lactic acid crystals did not form.

Mountant. With the advancement of chemistry and the development of the plastic industry a new preparation — Polyvinyl alcohol — was made available as a mountant. The Du Pont Corp of America at one time marketed a preparation in powder form — Low Viscocity (R.H. 349) which has now apparently been discontinued. There is now, however, a similar preparation available — Elvanol — which is found to be pratically identical to the original powder.

A quantity of this powder is placed in a jar or glass beaker and covered with distilled water, the powder being stirred during the process. After standing for twentyfour hours more water is added, the contents being again stirred. The beaker should now be stood in a water bath and the water brought to the boil, the contents being occassionally stirred. The mixture will by then have cleared considerably and can be filtered through No. 1 bolting silk. To 56 parts (by volume) of this liquid add 22 parts each of lactic acid and phenol (aqueous solution).

Specimens which have been cleared in hot lactic acid (plus stain) can be mounted direct into the mixture — PVA + lactic phenol — without passing them through water and no crystallization develops. The use of Orange G stain has been found to be a good method for differentiation of the solenidion, famulus and simple spines which are used as taxonomic characters in identification of some of the mites.

Mounting. Methods for handling the mites vary according to individual preference — some workers prefer to use setting needles damped with mountant or spirit — this is liable to damage the specimens, breaking of the legs, ect. The small passerine birds posses at their wing tip a small point feather which, when set into the end of a small wooden handle will be found to be a most useful instrument for picking up mites, brushing away particles of dirt, cotton fibres, etc and for setting the legs in position.

When the slides are thoroughly dry — by mild heat in a drying oven for pre-

ference — the cover glasses will be found to be quite secure and ringing of the cover glasses is not essential. Should it be felt that ringing is desirable an initial cleaning of the excess mountant can be made with water or spirit. An initial ring of Gum Chloral will generally suffice but Brown ringing cement can be added on top of the Gum Chloral ring.

Collecting. Collections of mites from soil, bark, moss, dead leaves, etc. can be made by means of the Tullgren method — see Haarlov's modification — or the Berlese funnel; the first uses light (the mites being phototaxic) and the second uses heat as the means of driving the mites down the funnel into the collecting bottle or jar.

In the first system a quantity of the soil etc is placed on a wire screen over a funnel with an electric light bulb above it and a glass jar is placed beneath to collect the mites as they leave the soil. When the light is switched on the top layer of soil becomes warm and the mites in trying to get away from the heat and light burrow into the lower layers of soil and are eventually driven out and drop into the collecting jar beneath.

In the Berlese funnel system heat is applied by means of a hot water jacket around the funnel and the process is the same.

BIBLIOGRAPHY

ALLMAN, G. J. (1847): Description of a new genus and species of Tracheary Arachnidans. *Ann. Mag. nat. Hist., 20,* 47-52.

BANKS, N. (1901): A new genus of endoparasitic Acarians. *Geneesk. Tijdschr. Nederl. Indie, 41,* 330-34.

BANKS, N. (1910): New American mites. *Proc. ent. Soc. Wash., 12,* 2-12.

BANKS, N. (1915): The Acarina or Mites. *Report No. 108 U. S. Dept Agri.,* 1.146.

BEDFORD, G. A. H. (1932): A Synoptic check list & Host list of the Ectoparasites found on S. African Mammalia, Aves and Reptilia. *18th Rep. Divn. Vet. Services. Anim. Ind. Union. S. Africa.*

BERLESE, A. (1882-92): Acari, Myriopoda et Scorpiones huc. ital. rep. Patavii.

BERLESE, A. (1903): et seq. *Redia, 1* to *14.*

BERLESE, A. (1903b): Diagnosi di alcune nuove specie di Acari italiani mirmecofili e e liberi. *Zool. Anz., 27,* 14.

BERLESE, A. & TROUESSART, E. L. (1889): Diagnoses d'Acariens nouveaux ou peu connus. *Bull. Bibl. Sci. de l'Ouest., 9,* 121-43.

BERTRAM, D. S., UNSWORTH, K. & GODRON, R. M. (1946): The biology and maintenance of *Liponyssus bacoti* Hirst, 1913 and an investigation into its role as a vector of *Litomosoides carinii* to cotton rats and white rats, together with some observations in the white rats. *Ann. Trop. Med. Parasit., 40,* 228.

CAMIN, J. H. (1948): Mite transmission of a haemorragic septicemia in snakes. *J. Parasit., 34,* 345-354.

CANESTRINI, G. & KRAMER, P. (1889): Demodicidae und Sarcoptidae. *Das Tierreich,* 7.

CHANDLER, W. L. & RUHE, D. S. (1940): *Pneumonyssus caninum* n. sp., a mite from the frontal sinus of the dog. *J. Parasit., 26,* 59-70.

EWING, H. E. (1922): Dermanyssid mites of N. America. *Proc. U. S. Nat. Mus. 62, 13,* 1-26.

EMING, H. E. (1924): A new mite from the lung of a rattlesnake. *Proc. ent. Soc. Wash., 26,* 179.

EWING, H. E. (1925): New mites of the family Dermanyssidae. *Ent. News., 36,* 18-22.

EWING, H. E. (1929): A Manual of External Parasites. Baltimore; Chas. Thomas.

EWING, H. E. (1929b): Notes on the lung mites of primates (Acarina: Dermanyssidae) including the description of a new species. *Proc. ent. Soc. Wash., 31*, 126-30.

EWING, H. E. (1933): A new pit producing Mite from the scales of a South American Snake. *J. Parasit., 20*, 53-6.

EWING, H. E. (1944): The Trombiculid mites (Chigger mites) and their relation to disease. *J. Parasit., 30*, 339-65.

FLETCHER, W., LESSLAR, J. E., & LEWTHWAITE, R. (1928): The Aetiology of the Tsutsugamushi disease and Tropical Typhus in the Federated Malay States. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg. Lond., 22*, 161-74.

FONSECA, F.DA (1932): Notas de Acareologia. *Mem. Inst. Butantan*, 7, 135-46.

FONSECA, F.DA (1938): Notas de Acareologia. *Mem. Inst. Butantan, 12*, 7-53; 103-23; 147-54.

FONSECA, F.DA (1941): Notas de Acareologia XXXIV. Posicao do genero *Liponissus* Kolenati em face das especies tropicais; seu desdobramento em novos generos (Acari, Liponissidae). *Ciencia Mexico, 2*, 262-65.

FONSECA, F.DA (1948): A Monograph of the Genera and Species of Macronyssidae Oudemans, 1936 (Synom: Liponyssidae Vitzthum, 1931) (Acari) *Proc. zool. Soc. Soc. Lond.*,

FRANCHINI, G. (1921): Trypanosome de la chauve souris en Italie. Formes viscerales et stades de developpement chez un acarien gamaside, le *Leiognathus laverani* n. sp.. *Bull. Soc. Path. exot, 14*, 542.

FINNEGAN, S. (1934): On a new species of Mite of the family Halarachnidae from the southern sea lion. *Discovery Reports*, 7, 319-28.

GATER, B. A. R. (1932): Malayan Trombidiid Larvae. *Parasitology, 24*, 143-74.

GREENBERG M., PELLITTERI O. and. JELLISON, W. L. (1947): Rickettsialpox - a newly recognized rickettsial disease. *Amer. J. publ. Hlth. N. Y., 37*, 860-868.

GONDAR, R. (1910): *Trypanosoma vespertilionis* Bataglia. *Zbl. Bakt. Abt. Orig., 53*, 293.

HESTON, W. E. (1941): *Biology of laboratory mice.* Philadelphia, Chapt. II: 374.

HIRST, S. (1913): On three new species of Gamasid mites found on rats. *Bull. ent. Res., 4*, 119-24.

HIRST, S. (1921): On some new Parasitic Mites. *Proc. zool. Soc. Lond.*, 769-802.

HIRTS, S. (1922): Mites injurious to Domestic Animals. British Museum (H.H.). Economic Series No. 13, 1-107.

HUBBARD, W. E. (1938): *Ophiopneumicola colubri* n. gen., n. sp., a lung mite from a snake. *Trans. Amer. Micr. Soc., 57*, 400-406.

HUBBARD, W. E. (1939): *Entonyssus ewingi* n. sp., an Ophidian lung mite. *Amer. Midl. Nat., 21*, 657-62.

KEEGAN, H. L. (1943): Three new Ophidian lung mites of the subfamily Entonyssidae, Ewing, 1922. *Parasitology, 35*, 128-33.

KOCH, C. L. (1835-41): Crustaceen, Myriopodea und Arachniden, Deutschlands. Regensburg.

KOLENATI, F. A. (1857): Die Parasiten der Chiropteren. Brunn.

KOLENATI, F. A. (1858): Synopsis Prodroma der auf Chiropteren als Epizooën vorkommenden Lausmilben, *Carida* Kolenati. *Wien. ent. Mschr., 2*, 4-7.

KRULL, H. (1939): Life history of *Moniezia expansa* & *Cittolamia sp* (Cestoda: Anoplocephalidae). *Proc. Helminth. Soc. Wash., 6*, 10-11.

KRULL, W. H. (1939b): Observations in the distribution & ecology of the oribatid mites. *J. Wash. Acad. Sci., 29*, 319-28.

LIU, W. T'UNG. (1944): Studies on the murine origin of typhus epidemics in North China - III. Isolation of murine typhus rickettsiae from rats, rat fleas and body lice of patients during an epidemic in a poor house. *China Med. J, 62*, 119.

LIU, W. T'UNG. (1947): Isolation of typhus rickettsiae from rat mites *Liponyssus bacoti* in Peiping. *Amer. J. Hyg., 45*, 58.

MANWELL, R. D. & JOHNSON, C. M. (1931): A natural trypanosome of the canary. *Amer. J. Hyg., 14*, 231.

MACFIE J. W. S. & THOMPSON J. G. (1929): A trypanosome of the canary (*Serinus canarius* Koch) *Trans. Soc. Trop. med. Hyg., 23*, 185-191.

MCINTOSH, A. (1935): Tropical rat mite attacking man in St. Louis area. *Proc. Helminth. Soc. Wash., 2*, 62.

MORISHITA, K. & OHMORI, N. (1923): A mite of the genus *Liponyssus* found in Taihoku. *J. med. assoc. Formosa, 32*, 40.

NAGAYO, M., MIYAGAWA, T., MITAMURA, T. and IMAMURA, A. (1917): Uber die zoologische Stellung der Akamushi. *Eiseigaku Densenbyogaku Zasshi., 13.*

NAGAYO et al. (1921): *Amer. J. Hyg., 1*, 569.

NEWSTEAD, R. & TODD, J. D. (1906): On a new Dermanyssid Acarid. *Mem. Lpool. Sch. Trop. Med., 18*, 41-4.

NETTER, A. (1931): Existence sur le littoral mediterraneen, etc. *Bull. Acad. Med. Paris., 105*, 1017.

OLSON, T. A., & DAHMS, R. G. (1946): Observations on the tropical rat mite, *Liponyssus bacoti* an ecto parasite of laboratory animals and suggestion for its control. *J. Parasit., 32*, 56.

OUDEMANS, A. C. (1935): Kritische Literaturarubersicht zur Gattung *Pneumonyssus* Beschreibung dreier Arten darunter einer neuen. *Z. Parasitenk, 7*, 466-512.

PANG, K. H. (1941): Isolation of typhus rickettsiae from rat mites during epidemic in an orphanage. *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y., 48*, 266.

PARKER, R. R. and KOHLS G. M. (1943): American « Q » fever; the occurrece of *Rickettsia diaporica* in *Amblyomma americanum* in Eastern Texas. *U. S. Public Health Repts*, 58.

POTEMKINA, V. A. (1941): Contribution to the biology of *Moniezia expansa* a tapeworm parasitic in sheep and goats. *C. R. Acad. Sci. U.R.S.S., 30*, 474-6.

POTEMKINA, V. A. (1944): Decipherment of the biological cycle in *Moniezia benedeni* tapeworm parasite of cattle & other domestic animals. *C. R. Acad. Sci. U.R.R.S., 42*, 146-8.

RADFORD, C. D. (1934-6): Notes on mites of the genus Myobia. *North West Nat. 9*, 356-64; *10*, 248-58; *11*, 34-9; *11*, 144-51.

RADFORD, C. D. (1937): A new species of mite of the genus *Entonyssus*, Ewing. *North West Nat., 12*, 38-42.

RADFORD, C. D. (1938): *Pneumonyssus procavians* n. sp. a new lung mite. *Ann. Transv. Mus., 19*, 147-52.

RADFORD, C. D. (1938-41): Notes on some new species of parasitic mites *Parasitology, 30*, 427-40; *31*, 241-54; *32*, 91-104; *33*, 306-15.

RADFORD, C. D. (1942a): New ectoparasitic mites (Acarina) from Uganda. *Parasitology, 34*, 185-94.

RADFORD, C. D. (1942b): New parasitic mites (Acarina). *Parasitology, 34*, 295-307.

RADFORD, C. D. (1946): New species of Larval Mites (Acarina: Trombiculidae) from Manipur State, India. *Proc. zool. Soc. Lond., 116*, 247-65.

RADFORD, C. D. (1947): Parasitic Mites from Snakes and Rodents (Acarina: Cheyletidae Listrophoridae and Laelaptidae). *Proc. zool. Soc. Lond., 117*, 228-40.

RADFORD, C. D. (1950): Systematic Check list of Mite Genera and Type Species. Union Internationale des Sci. Biol. Paris.

REEVES, W. C., HAMMON, W. McD., FURMAN, D. P., MCCLURE, H. E. & BROOKMAN, B. (1947: Recovery of Western Equine Encephalo-myelitis virus from wild bird mites (*Liponyssus sylviarum*) in Kern County, California. *Science, 105*, 27-29.

REICHENOW, E. (1913): *Karyolisus lacertae*, ein wirtwechselndes Coccidium der Eidechse *Lacerta muralis* und der Milbe *Liponyssus saurarum. Arb. Gesundh. Amt. Berlin, 45*, 317.

REICHENOW, E. (1917): Die Pathologen Protozoen, Berlin, p. 394.

RILEY, W. A. (1940): The tropical rat mite *Liponyssus bacoti* in Minnesota. *J. Parasit., 26*, 433.

ROVELLI, S. e GRASSI, B. (1888): Di un singolare Acaride *Podolipus reconditus*, nobis. *Bull. Soc. ent. Ital., 20.*

RUNKEL, C. E. & KATES, K. C. (1947): New intermediate host (*Protoschelobates seghetti* n. sp., Acarina: Scheloribatidae) of the sheep tapeworm, *Moniezia expansa*. *Proc. Helminth Soc. Wash., 14*, 64-7.

SAMBON, L. W. (1928): *Ophioptes parkeri*. A new species and genus of Cheyletid inhabiting the scales of reptiles. *Ann. Trop. Med. Parasit., 22*, 137-42

SCHMIDT, F. L. (1940): *Entonyssus vitzthumi* (Acarina) a new Ophidian lung mite *J. Parasit., 26*, 309-13.

SCHROEDER, C. R. (1934): The snake mite (*Ophioyssus serpentium* Hirst). *J. Econ. ent., 27*, 1004.

SPENCER, G. I. (1937): The menace of rat parasites in Vancouver in 1936. *Proc. ent. Soc. B. C., 33*, 44.

STOLL, N. R. (1938): Tapeworm studies. VII. Variation in pasture infestation with *Moniezia expansa*. *J. Parasit., 24*, 527-45.

STUNKARD, H. W. (1937): Life cycle of *Moniezia expansa*. *Science, 86*, 312.

STUNKARD, H. W. (1938): Development of *Moniezia expansa* in the intermediate host. *Parasitology, 30*, 491-501.

VITZTHUM, H. GRAF. (1930): *Pneumonyssus stammeri*, ein neuer Lungenparasit. *Z. Parasitenk., 2*, 595-615.

VITZTHUM, H. GRAF. (1935a): Uber die Gattung *Entonyssus* Ewing (Acari). *Z. Parasi enk., 7*, 709-16.

VITZTHUM, H. GRAF. (1935b): Milben aus der Nasenhohle von Vogeln. *J. Ornith., 83;* 563-87.

VITZTHUM, H. GRAF. (1941): Acarina in K. G. Bronns « Klassen und Ordnungen des Tierreichs ». 5 bd.iv. Abt. 5 buch.I-IOII.

WALCH, E. (1923): Over *T. deliensis*, vermoedelijk over brengster der pseudo-typhus, en andere Delische Trombicula. *Kitasato Arch. exp. Med., 5*, 63-83.

WALCH, E. (1925): On the Trombiculae, carriers of pseudo-typhus, and related species from Sumatra. *Kitasato Arch. exp. Med., 6*, 235-57.

WILLIAMS, R. W. & BROWN, H. W. (1945): The development of *Litomosoides carinii*, filariid parasite in the cotton rat and the tropical rat mite. *Science, 102*, 482.

WOMERSLEY, H. (1941): Notes on the Cheyletidae (Acarina: Trombidoidea) of Australia & New Zealand, with descriptions of new species. *Rec. S. Aust. Mus., 7*, 51-64.

YAMADA, S. (1930): Observations on a house-infesting Mite (*Liponyssus nagayoi*, n. sp.) which attacks human beings, etc. *Debuts. Zasshi Tokya, 43*, 1931, 237-49.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

NOTE E OSSERVAZIONI

SULLA DIAGNOSI DELLA OSSIUROSI CON IL METODO DI GRAHAM

Nelle varie inchieste epidemiologiche sulla diffusione e distribuzione della ossiurosi nella popolazione infantile d'Italia, compiute od in corso ad opera dello scrivente, l'indagine è stata constantemente effettuata mediante un solo esame con il nastro di cellophane adesivo (*scotch cellophane tape*) secondo il metodo di Graham. Con tale sistema non si ottiene ovviamente la reale incidenza dell'infestazione in una popolazione; i dati che si ricavano, considerando l'elevata sensibilità del metodo, possono tuttavia ritenersi assai indicativi della intensità del parassitismo e consentono agevolmente la comparazione tra una località e l'altra, ciò che in sostanza è sufficiente ai fini epidemiologici.

Si è però ritenuto interessante di cercare di calcolare a quale valore effettivo di diffusione della ossiurosi corrisponda il dato ottenuto con un solo esame.

La relativa ricerca è stata espletata in tre località della provincia di Latina: Latina Scalo, Sermoneta Scalo e Doganella. Sono stati complessivamente esaminati 337 bambini, 197 maschi e 140 femmine, di età dai 6 ai 12 anni, delle locali scuole elementari. Tutti i soggetti che risultarono negativi, o dubbi, al primo esame furono riesaminati 3-4 giorni dopo; e quelli negativi, o dubbi, anche a questo secondo esame ancora una terza volta a precisa distanza di una settimana dal primo esame. In merito ai cosidetti « dubbi », va precisato che sono stati considerati tali quei casi in cui l'estrema scarsezza del numero totale delle uova presenti (1-3) e la posizione periferica di esse sul cellophane facevano sospettare, nonostante le cautele usate, un occasionale trasporto di uova sul campione in esame a mezzo delle dita dell'operatore; tale eventualità non si può infatti ritenere improbabile nel lavoro fatto in serie.

I risultati ottenuti sono esposti nella Tabella 1. I dati vengono riferiti senza tener conto del sesso dei soggetti, in quanto non sono state rilevate sostanziali differenze di comportamento tra maschi e femmine. Nel novero dei positivi, per semplicità di calcolo, sono stati compresi anche i casi dubbi: ciò spiega, per esempio, perchè in un caso (Doganella) si abbia al secondo esame una percentuale del totale dei soggetti infestati inferiore a quella ottenuta dal primo.

L'esame di tali risultati dimostra che l'effettuazione di un secondo ed un terzo esame dei soggetti negativi o dubbi porta ad un aumento della percentuale di infestazione totale di ogni gruppo di entità assai prossima, sì che le oscillazioni dalla media generale sono molto limitate. Per cui si può ritenere che appunto il valore di tale media generale rappresenti con sufficiente esattezza la misura dell'aumento che in linea di massima si può verificare con la ripetizione degli esami dei soggetti negativi o dubbi; e che pertanto una aggiunta di 5 unità al valore della percentuale trovata al primo esame sia espressiva delle reali condizioni di infestazione della popolazione in esame.

La misura dell'arrotondamento a 5 unità si ritiene sufficiente a compensare anche l'indiscutibile aumento di positivi che si sarebbe avuto con una prosecuzione degli esami, oltre il 3°, dei soggetti negativi; ciò in quanto va tenuto presente che nel computo dei positivi sono stati compresi, come si è detto, anche i dubbi, questi essendosi in effetti dimostrati positivi agli ulteriori esami solo in una minor parte: dei complessivi 18, pari al 5,34% dei soggetti esaminati, definiti tali al 1° esame solo 7, e cioè il 38,89%, sono invero risultati positivi con i successivi due (risultati al 2° esame: 2 (11,11%) positivi, 2 (11,11%) di nuovo dubbi e 14 (77,78%) negativi).

TABELLA 1

Diffusione della ossiurosi risultante ai tre successivi esami, per località e nel totale dei soggetti esaminati.

Località	n° esaminati	1° esame	2° esame		3° esame		
		positivi %	positivi %	± 1° esame	positivi %	± 2° esame	± 1° esame
Latina Scalo . .	128	74,22	76,56	+ 2,34	78,13	+ 1,57	+ 3,91
Sermoneta Scalo	132	75,76	78,79	+ 3,03	81,06	+ 2,27	+ 5,30
Doganella. . .	77	70,13	68,83	— 1,30	75,32	+ 6,49	+ 5,19
totale . . .	337	73,89	75,67	+ 1,78	78,64	+ 2,97	+ 4,75

Un esame particolare rivolto ai soli 88 negativi al primo esame ha dimostrato che con gli ulteriori due esami si riesce a dimostrare la reale positività del 30,68% di essi — praticamente identici sono in materia i valori parziali delle tre località: Latina Scalo 30,30%, Sermoneta Scalo 31,25% e Doganella 30,43% —; al secondo esame si ebbero: 14 (15,91%) positivi, 6 (6,82%) dubbi e 68 (77,27%) di nuovo negativi. E' opportuno precisare che la quasi totalità dei casi di positività al 3° esame, dopo i primi due ad esito negativo o dubbio, è costituita da soggetti presentanti un numero assai scarso di uova. Ciò appare allo scrivente una conferma di quanto era stato indotto a pensare in base alla sua personale esperienza; e cioè che l'applicazione del metodo del nastro di cellophane adesivo per la diagnosi della ossiurosi può dare risultato negativo o dubbio solo in casi come questi ultimi ricordati, casi presumibilmente espressivi di gradi piuttosto bassi di infestazione; mentre solo eccezionalmente l'esito è tale ogni volta che l'infestazione sia sufficientemente intensa.

MARCELLO RICCI

Istituto Superiore di Sanità. Laboratorio di parassitologia. Roma

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

RECENSIONI

GEIGY R. e HERBIG A. — *Erreger und Uebertrager tropischer Krankheiten.* Supplemento N. 6 di *Acta Tropica*, 1955, Verlag für Recht und Gesellschaft AG. Basel, pp. 472, tav. 28, fig. 17, tab. 17.

Ritengo utile riportare le parole stesse del prof. MOOSER, direttore dell'Istituto d'Igiene dell'Università di Zurigo, il quale nella prefazione a questo volume ne dà un quadro molto preciso. « Non si tratta di un testo di medicina tropicale, nè di un testo di entomologia medica nel vero senso della parola. Gli AA. offrono, anche ai non iniziati, una chiara trattazione delle relazioni biologiche esistenti, da una parte fra gli agenti di varie malattie tropicali ed i loro ospiti artropodi, e dall'altra fra questi ultimi due ed i loro ospiti mammiferi, sopratutto l'uomo ».

L'opera di GEIGY e HERBIG è difatti di facile lettura, corredata da ottime illustrazioni con didascalie in tedesco, francese ed inglese, caratteristica questa di grande utilità per la diffusione del volume. Si tratta in definitiva di una opera pratica che servirà ad orientare il lettore su quella che è la biologia dei vettori e degli agenti delle malattie tropicali da essi trasmessi. Quindi è un libro estremamente utile anche per il medico il quale, sebbene oggi abbia a disposizione numerosi buoni testi di medicina tropicale, non può facilmente trovare, invece, una ottima fonte di precise nozioni biologiche circa le malattie tropicali come nella presente opera. Gli AA., ambedue zoologi, hanno difatti tralasciato di proposito la trattazione della malattia in sè per descrivere invece nei loro dettagli gli aspetti biologici dell'agente e del vettore, intimamente legati al quadro clinico.

I viaggi compiuti dagli AA. nell'Africa e nel Sud America hanno decisamente contribuito, attraverso il materiale raccolto e le osservazioni ivi compiute, a conferire a quest'opera un carattere di palese originalità.

L'opera comprende due parti: gli artropodi come vettori e gli artropodi come agenti di malattie. Questa seconda parte è limitata a poche pagine. La prima parte comprende invece la suddivisione dei vettori in gruppi zoologici; per ognuno di questi gruppi, infine, si ha la trattazione degli agenti da essi trasmessi. Ad esempio, il gruppo dei Nematoceri include la malaria, le malattie da virus, le filariosi e le leismaniosi; il gruppo delle mosche (*Brachycera*) include le tripanosomiasi e le malattie acicliche da essi trasmesse (amebe, flagellati, infusori); ecc.

Chiude il volume un capitolo sulla tecnica di laboratorio. La bibliografia è divisa per soggetto.

Si segnala quest'opera ai parassitologi medici e veterinari.

S. BETTINI

Roy D. M. & Brown A. W. A.: *Entomology (Medical and Veterinary) including Insecticides and Insect and Rat Control.* Excelsior Press, Calcutta, 1954. 2nd Edition. X + 414 pagg., 207 figg. e 8 tavv. f. t. non numerate. Rs. 30. 45 Sh. Dls. 8.

Questo libro comprende due parti: I, Entomologia, dovuta al Roy; II, Insetticidi e lotta contro gli insetti ed i ratti, ad opera del Brown.

La prima parte, che è la rielaborazione della prima edizione pubblicata nel 1946, si occupa della entomologia, intendendola però in un senso molto vasto; essa comprende infatti la trattazione di tutti i gruppi degli Artropodi interessanti in qualche modo la medicina umana e veterinaria, e perfino degli Anellidi (Cap. I). Il Cap. II è dedicato alla struttura degli Insetti, ma riporta anche cenni della classificazione del tipo Artropodi e, tra l'altro, elenchi degli artropodi dannosi per l'uomo, sia in quanto ospiti intermedi o vettori passivi di agenti patogeni sia per propria diretta azione, concludendosi con una dettagliata descrizione di *Periplaneta americana* presa quale insetto tipo. I Capitoli successivi illustrano dal III al IX: i Ditteri; il X i Sifonatteri; l'XI gli Imenotteri, i Coleotteri ed i Lepidotteri; il XII gli Emitteri; il XIII gli Anopluri; dal XIV al XVI gli Aracnidi; il XVII i Crostacei e gli altri Artropodi. La trattazione di ogni argomento è sempre ben commisurata alla sua importanza sia in generale che, specialmente, nei riflessi dell'India (la trattazione del gen. *Anopheles* è p. es. quasi esclusivamente limitata alle specie indiane); di ogni gruppo sistematico, o singolo artropodo, vengono riferite le caratteristiche anatomiche e biologiche, nonchè i suoi rapporti con la patologia medica e veterinaria; per i gruppi, o singole specie, di particolare interesse sono inoltre aggiunte notizie sulla possibilità di allevamento in laboratorio, sulle modalità di raccolta, di conservazione e preparazione, sulle particolari tecniche eventualmente necessarie per il loro studio, sulla lotta contro di essi. L'ultimo capitolo raccoglie infine in forma schematica le norme essenziali della tecnica di laboratorio per lo studio degli Artropodi.

La seconda parte comprende tre capitoli di nozioni generali sugli insetticidi, il primo occupandosi della chimica, il secondo della tossicologia ed il terzo delle modalità di applicazione; e due capitoli di parte speciale, dedicati cioè rispettivamente: il primo alla lotta con gli insetticidi contro i Ditteri nocivi, ed il secondo a quella contro le altre specie di importanza medica; in quest'ultimo è anche inclusa, come parte conclusiva del volume, la lotta contro i roditori.

Si tratta nel complesso di un libro ottimamente riuscito Il testo è aggiornato fino ai tempi più recenti; l'esposizione è chiara, schematica, come si addice a simili opere; la ricerca degli argomenti è facile, e l'adozione di due diversi corpi di stampa mette nell'opportuno risalto le parti di interesse più generale ed importanti; una ricca bibliografia specializzata è posta in calce ad ogni capitolo. Aggiungeremo infine che generalmente buona è l'iconografia, e più che decorosa la veste editoriale.

M. Ricci

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 1 - Gennaio 1955

NECROLOGI

Il 3-12-1954 si è spento a Genova il Prof. Domenico Pujatti, Direttore sanitario dell'Istituto «Giannina Gaslini» e Conservatore Onorario del Museo Civico di Storia Naturale di Genova.

Nato nel 1903, si laureò in Medicina e Chirurgia a Padova, nel 1930, con il massimo dei voti e la lode. Nel 1933 entrò quale assistente volontario nell'Istituto d'Igiene dell'Università di Genova, diretto dal Prof. L. Piras, ove portò a termine numerosi interessanti lavori che gli consentirono di ottenere nel 1942 l'abilitazione alla Libera Docenza in Igiene.

La Sua vera passione fu tuttavia la parassitologia. Si era già occupato di amebiasi pubblicando nel 1939 uno studio su tale protozoosi in Liguria. Ma fu durante la Sua lunga prigionia di guerra in India, dall'inizio del 1941 alla fine del 1945, che Egli cominciò pienamente ad attendere a tale disciplina: Egli dedicò infatti in questi anni tutto il tempo lasciatogli disponibile dalle Sue mansioni di Direttore di Laboratori dei P.O.W.-Hospital alla osservazione ed alla raccolta di ingentissimo materiale parassitologico; materiale alla cui elaborazione attese non appena rientrato in Italia, traendone molte e pregiate pubblicazioni.

Egli fu particolarmente attratto dagli studi di Elmintologia, degli elminti studiando sia la sistematica che la morfologia, la biologia, la patologia e la teratologia; ma non trascurò tuttavia anche gli altri campi parassitologici, occupandosi anche di protozoologia e di entomologia. Ci lascia in complesso 50 pubblicazioni. Nel 1954 aveva conseguito l'abilitazione alla Libera Docenza in Parassitologia, riuscendo il primo nella graduatoria; e nel corrente Anno Accademico doveva tenere il Suo primo Corso di Parassitologia nell'Università di Genova.

Questa Rivista, che ebbe l'onore di averLo tra i suoi più affezionati collaboratori e sostenitori, si unisce al dolore della Famiglia con il suo omaggio riverente e commosso.

M. R.

Direttore responsabile: Dott. E. Mosna

Soc. An. Poligrafica Italiana — Roma, Via della Guardiola, 22

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 2 - Aprile 1955

SULLE VARIETA' MORFOLOGICHE DI *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*. III. DIAMETRO E POTERE PATOGENO

G. BUCCO (*) e G. CHIEFFI (*)

Nelle nostre due precedenti note, abbiamo esaminato il problema della varietà e variabilità del diametro di *Entamoeba histolytica,* concludendo che possa parlarsi di ceppi e non di razze diverse del parassita; ci eravamo riservati di discutere, in questa terza nota, le nostre osservazioni relativamente alla patogenicità dei ceppi grandi e piccoli del parassita.

La patogenicità delle forme grandi è una questione già scontata, nè vogliamo porre in discussione il fatto, anche da noi constatato, che nelle dissenterie tipiche dei tropici, non solo è caratteristico il reperto di forme grandi di *E. h.,* ma un reperto comune è addirittura quello delle forme giganti; invece la patogenicità delle forme piccole è ancora oggetto di vivaci discussioni. Circa tale problema esistono numerosi lavori sia sperimentali che clinici. Drbohlaw (1925) ha osservato che la razza piccola non determina dissenteria nè ulcerazioni nel gattino. Spector (1936) è riuscito ad infettare *per os* soltanto otto su 37 gattini con cisti piccole e solo due di questi presentavano piccole ulcere nel crasso; mentre con la razza grande ne riusciva ad infettare 10 su 22. Frye e Meleney (1938) e Meleney, Frye e Leathers (1939) hanno studiato la patogenicità di molti ceppi di *E. h.* Uno di questi apparteneva alla forma piccola con cisti di diametro inferiore a 10 μ . Di 5 gattini infettati, 4 presentavano nel crasso rare, piccole lesioni poco profonde, mentre il quinto presentava alcune lesioni poco profonde ed in più una piccola ulcera nella sottomucosa. Queste osservazioni, secondo gli AA., confermano maggiormente l'esistenza di una razza piccola di *E. h.* relativamente fissa nella sua grandezza e patogenicità, la quale possiede un basso potere di invasione nei tessuti dell'uomo e del gattino. Kessel (1928) tuttavia sembra non aver trovato alcuna differenza tra le lesioni prodotte infettando il gattino sia con forme grandi sia con forme piccole di *E. h.,* sebbene successivamente affermi di non essere

(*) *Clinica delle malattie infettive e delle malattie tropicali della Università di Napoli* (Direttore: Prof. I. Jacono).

riuscito a trovare amebe penetrate nei tessuti nel caso di infezione con la forma piccola, mentre questa penetrazione si riconosceva in numerosi gattini infettati con la forma grande. Rizzotti (1952) inoculando materiale fecale contenente amebe piccole nel cieco di quattro conigli, è riuscito a produrre in tutti i casi lesioni ulcerative del cieco. Inoltre mentre i trofozoiti nelle feci del paziente, da cui venne isolato il ceppo, non presentavano eritrofagia, nel coniglio se ne osservavano vari contenenti globuli rossi. Questa osservazione, secondo l'A., presenta un particolare interesse perchè dimostra che *E. h.* conserva latente la possibilità di divenire ematofaga, anche se non manifesta nell'uomo questa proprietà; inoltre perchè dimostra che il potere patogeno di un'ameba può manifestarsi in grado diverso nei diversi ospiti.

Passando a considerare la patogenicità delle forme piccole nel campo umano, sembra che solo raramente siano stati osservati casi clinici di dissenteria, mai di ascessi epatici da essa sostenuti. Basile (1927) afferma di aver osservato nel corso di ricerche lungo il medio Uebi Scebeli, casi di dissenteria tipica determinata da forme piccole di *E. h.*, che si giovavano della cura emetinica. Sapero e coll. (1942) nei casi da loro studiati di dissenteria cronica hanno osservato sempre la forma grande e mai la piccola. Invero nei casi che presentavano la forma piccola, gli AA. non hanno mai potuto rilevare sintomi di una certa importanza. Esistevano sì lievi disturbi, ma secondo loro era difficile poterli addebitare alla forma piccola. D'altra parte il miglioramento di questi disturbi notato in alcuni casi dietro somministrazione di carbasone, portava gli AA. a non escludere la possibilità che la forma piccola fosse patogena. Andrews (1942) afferma di aver osservato dozzine di casi di infezione umana con razza piccola, senza aver mai constatato, in questi pazienti, dissenteria.

Secondo Brumpt (1949) ed altri, fra cui Fensenfeld (1945) e Colonnello (1951), la forma minuta di *E. h.* è in effetti lo stadio che abitualmente si riscontra negli amebiasici cronici in fase di quiescenza o di lieve disturbo.

Rizzotti (1952) ad Addis Abeba non ha mai notato casi di dissenteria dovuti alla forma piccola, ma ha notato casi nei quali erano presenti disturbi di notevole entità a carico dell'apparato digerente (diarrea, stipsi, dispepsie, dolori addominali, ecc.); la cura emetinica produsse rapida, completa ed apparentemente definitiva guarigione.

Buonomini e Braccini (1954) condividono l'opinione di Porter (1953), secondo cui i tipi di *E. histolitica* che producono cisti piccole sono virtualmente non patogeni per l'uomo.

D'altra parte molti AA. (Faust, 1941; Craig, 1944; Bucco, 1950; Colonnello, 1951; ed altri) basandosi su vasta esperienza personale, negano in genere le varie suddivisioni di *E. h.* in razze e considerano la patogenicità di un ceppo indipendente dalla sua dimensione, potendosi peraltro, secondo alcuni, ammettere variazioni di virulenza.

Nell'interpretazione delle osservazioni personali che sono oggetto di queste nostre note, dobbiamo anzitutto mettere in evidenza che su 69 pazienti, da noi studiati, 41 presentavano solo forme grandi e 26 solo forme piccole di *E. h.*. In questi ultimi 26 pazienti si osservarono manifestazioni cliniche che potettero chiaramente essere interpretate come di natura amebica. Infatti essi presentavano frequentemente cefalea, stitichezza abituale, talvolta alternata a periodi di diarrea; in diversi pazienti si aveva sensibilità vaga e diffusa alla fossa iliaca destra o talvolta alla sinistra; il colon era in genere palpabile e dolente e in qualcuno si palpava la corda colica, espressione di uno stato spastico dell'intestino. Frequentemente i pazienti avevano flatulenze accompagnate a forti dolori colici, i quali si calmavano con l'emissione di gas. I disturbi gastrici erano quasi sempre rappresentati da inappetenza, lingua più o meno sporca, cattivo gusto, digestioni lunghe e penose con senso di oppressione gastrica. In una notevole percentuale di casi fu dimostrata positività di alcune prove di funzionalità epatica (Bucco, Chieffi e Mazzitelli, *in corso di pubblicazione*).

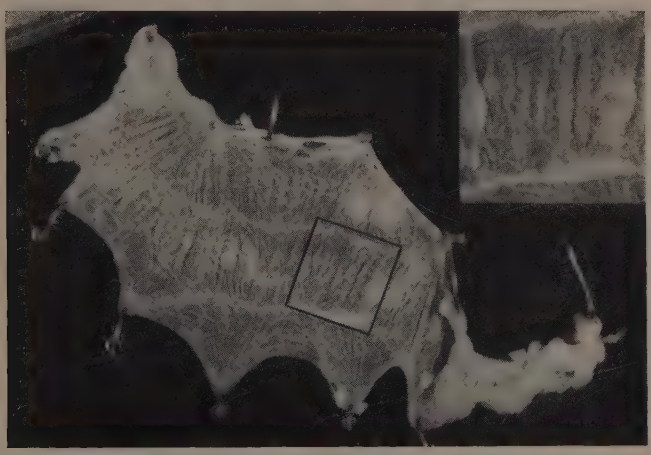


Fig. 1.

Questi quadri d'altronde sono stati ampiamente dimostrati da Amaral, Pontes e Pires (1947), Jacono (1950), Bucco (1950), Bucco e coll. (1952) ed altri AA. e rappresentano il quadro abituale della colite amebica nei nostri climi, ove sono addirittura eccezionali le forme che classicamente vengono descritte come dissenteria amebica.

L'osservazione clinica ci sembra quindi dimostrativa del ruolo patogeno delle forme piccole di *E. h.* che infestavano i 26 pazienti; d'altra parte abbiamo voluto controllare sperimentalmente la patogenicità di tali ceppi piccoli.

Abbiamo inoculato 7 di tali ceppi, ciascuno in tre cavie. La tecnica di inoculazione è stata la seguente: dopo aver somministrato al paziente gr. 30

di solfato di magnesio, viene raccolto il materiale in capsule di Petri; viene praticata, in anestesia generale e con le solite norme di antisepsi, laparatomia. Dopo esame microscopico delle feci, aspirate dal cieco della cavia con siringa (per escludere l'eventuale presenza di amebe), viene inoculato in esso 1 cc. di materiale. Dopo aver proceduto alla sutura, l'animale viene tenuto in osservazione.

Dei 21 animali, 5 morirono nelle prime 24 ore dall'inoculazione, in seguito al trauma operatorio. Degli altri 16 animali, 7 (1 per ogni dei 7 ceppi inoculati) furono sacrificati in 4a giornata. Gli altri 9 animali vennero sacrificati fra il 7° ed il 15° giorno dall'inoculazione.

Durante il periodo di osservazione gli animali non presentarono diarrea, nè alcun'altra manifestazione degna di rilievo.

All'autopsia venne praticato esame delle feci del colon. Dopo esame ma-

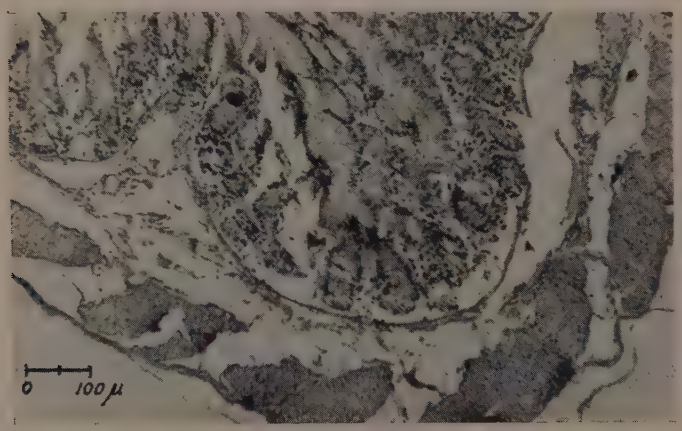


Fig. 2.

croscopico il colon veniva fissato in liquido di Bouin. Le sezioni, dello spessore di 7 μ, vennero colorate con ematossilina di Erhlich ed eosina.

Solo in due degli animali sacrificati in 4a giornata e in un altro animale sacrificato in 9a giornata vennero trovate amebe nelle feci e, nel colon, lesioni da attribuire alla localizzazione di *E. h.*. Si tenga presente che, di questi tre animali, quello sacrificato in 9a giornata e uno dei due animali sacrificati in 4a giornata erano stati inoculati con le feci provenienti dallo stesso paziente.

Nelle feci di questi tre animali furono repertati trofozoiti del diametro di 8-11 μ, corrispondentemente ai diametri dei ceppi piccoli inoculati. Nella mucosa del cieco e del colon ascendente di questi tre animali si osservarono macroscopicamente numerose ulcerazioni del diametro di 2-3 mm. (fig. 1).

L'esame microscopico confermò il carattere ulcerativo delle lesioni (fig. 2) e la presenza di trofozoiti di *E. h.* nelle ulcerazioni (fig. 3).

In conclusione noi riteniamo che sia il quadro clinico dei pazienti da noi osservati sia le inoculazioni positive negli animali dimostrino il potere patogeno dei ceppi piccoli di *E. h.*

Considerazioni conclusive.

A conclusione delle nostre tre note vogliamo far rilevare che ci sembra di poter senz'altro richiamare l'attenzione sulla frequenza con cui, nei nostri climi, le forme piccole di *E. h.* sostengono l'infezione. A tal proposito vogliamo

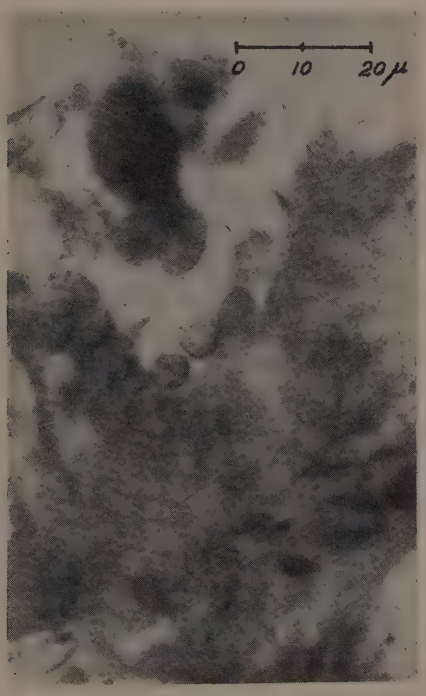


Fig. 3.

ricordare la differenza fra i dati da noi osservati a Napoli e quelli riportati, per es., da Rizzotti (1952) ad Addis Abeba; mentre noi abbiamo trovato il 37,7% di forme piccole, Rizzotti ne ha trovate il 7,2%; Amaral e coll. (1947) hanno stabilito che in Brasile predomina la forma grande. Poichè le ricerche di Rizzotti e di Amaral e coll. si svolgevano in zone tropicali (zone ove del

resto è frequente la classica dissenteria con forme giganti), il confronto tra questi dati suggerisce l'ipotesi di uno slittamento verso le forme più piccole sincronicamente allo spostamento dalla zona torrida verso i climi temperati o freddi. Ciò potrebbe rientrare in un ordine di idee generali, secondo cui l'aspetto morfologico del parassita può subire delle variazioni di diametro, in rapporto alle particolari condizioni biologiche in cui si è sviluppato il rapporto parassita-ospite.

RIASSUNTO

Gli AA. fanno presente che 26 pazienti, infestati da ceppi piccoli di *Entamoeba histolytica*, presentavano le manifestazioni cliniche dell'amebiasi intestinale. Inoltre gli AA. hanno studiato sperimentalmente la patogenicità di questi ceppi piccoli inoculandone 7 nel cieco di 21 cavie.

L'inoculazione riuscì positiva per due ceppi, che provocarono ulcerazioni nella mucosa del cieco e del colon ascendente

SUMMARY

The authors point out that 26 patients, who were found affected by strains of small race *Entamoeba histolytica*, showed the clinical picture of intestinal amebiasis. Moreover, they made an experimental investigation on the pathogenicity of these small race strains, 7 of which were inoculated in the caecum of 21 guinea-pigs.

The inoculation resulted positive for two strains, which caused ulcerations of the mucosa of the caecum and of the ascending colon.

BIBLIOGRAFIA

Amaral A. D. F., Pontes J. F. e de Avila Pires C. D. (1947): Amebiase. Rossolillo, Sao Paulo.

Andrews S. (1942): The transmission of *Endamoeba histolytica* and amebic disease - Cantl. Med. J., *35*, 693 - 699.

Basile C. (1927): Il parassitismo intestinale lungo il Medio Uebi Scebeli. *Ann. Medic. Nav. Colon.*, *33*, 269-281.

Brumpt E. (1949): Prècis de parasitologie. Masson, Paris.

Bucco G. (1950): Sui reperti di cisti amebiche nelle feci. *Acta Med. Ital. Malatt. Infett. Parass.*, *5*, 272-277.

Bucco G., Chieffi G., Digilio V. e Mazzitelli L. (1952: Osservazioni sulla diffusione e su alcuni aspetti clinici dell'amebiasi. *Giorn. Malatt. Infett. Parass.*, *4*, 200-201.

Bucco G., Chieffi G. e Mazzitelli L.: Comportamento di alcune prove di funzionalità epatica nella infestazione da forme piccole di *Entamoeba histolytica*. *In corso di pubblicazione.*

Buonomini G. e Braccini L. (1954): Su la diagnosi parassitologica di amebiasi. Nota II. Proposta di uno schema di indagini ai fini di una corretta diagnosi di *E. histolytica*. *Riv. It. Igiene*, *14*, 6 - 23.

CRAIG C. F. (1944): Etiology, diagnosis and treatment of amebiasis. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.

COLONNELLO F. (1951): La responsabilità del medico di fronte alla diagnosi di amebiasi. *Rass. Medica*, *28*, 161-164.

DOBOHLAW J. J. (1925): Culture d'*Entamoeba dysenteriae* type *Tetragena minuta*. *Ann. de Parasitol.*, *3*, 358-360.

FAUST E. C. (1941): Amebiasis in the New Orleans population as revealed by autopsy examination of accident cases. *Amer. Jour. Trop. Med.*, *21*, 35-48.

FENSENFELD O. (1945): The significance of the small varieties of Endamoeba histolytica. *Proc. Amer. Feder. Clin. Res.*, *2*, 58 - 59.

FRYE W. W. e MELENEY H. E. (1938): The pathogenicity of a strain of small race *Endamoeba histolytica*. *Amer. Jour. Hyg.*, *27*, 580-589.

JACONO I. (1951): Il problema clinico dell'infezione amebica. Atti VII Congr. Nazion. Medic. Igiene Trop. Subtrop., Montecatini, 11-12 giugno 1950, *Arch. Ital. Sci. Med. Trop. Parassitol.*, *32*, 245-279.

KESSEL J. F. (1928): Amoebiasis in kittens infected with amoebae from acute and « carrier » human cases and with the tetranucleate amoebae of the monkey and of the pig. *Amer. Jour. Hyg.*, *8*, 311-355.

MELENEY H. E., FRYE W. W. e LEATHERS W. S. (1939): The effects of prolonged cultivation on the pathogenicity of various strains of *Endamoeba histolytica* for kittens. *Amer. Jour. Hyg.*, *29*, 61-71.

RIZZOTTI G. (1952): Contributo allo studio della varietà piccola dell'*Entamoeba histolytica*. *Arch. Ital. Sci. Med. Trop. Parassitol.*, *33*, 299-312.

SAPERO J. J., HAKANSSON E. G. e LOUTTIT C. M. (1942): The occurrence of two significantly distinct races of *Endamoeba histolytica*. *Amer. Jour. Trop. Medic.*, *22*, 191-208.

SPECTOR B. K. (1936): Significance of the small variety *Endamoeba histolytica*. *Amer. Jour. Publ. Health*, *26*, 813-818.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 2 - Aprile 1955

SULL'AZIONE DELL'IDRATO DI PIPERAZINA VERSO *ENTEROBIUS VERMICULARIS*

MARCELLO RICCI (*) e SALVATORE CORBO (**)

Varie ricerche hanno messo in evidenza in questi ultimi anni l'efficacissima azione antiossiuriasica svolta dalla piperazina nella specie di alcuni suoi semplici derivati: idrato, difenilacetato, adipato.

Il primo contributo in materia è quello di Mouriquand, Roman e Coisnard (1951). Questi AA. riferirono infatti sugli esiti estremamente favorevoli ottenuti con l'uso dell'idrato di piperazina sia nelle prove di laboratorio, *in vitro* su *Rhabditis macrocerca* ed *in vivo* su *Aspiculuris tetraptera* e *Syphacia obvelata*, che nel campo clinico operando su 18 bambini, tra i 30 mesi ed i 15 anni, con *Enterobius vermicularis;* per questi ultimi il trattamento più efficace, ben tollerato da tutti i soggetti, risultò il seguente: due cicli di 7 gg di cura, intervallati da una settimana di riposo, con una dose quotidiana di gr. 0,1 per anno di età *per os*, ripartito in tre volte, più due supposte da gr. 0,1.

Turpin, Cavier e Savaton-Pillet (1952) usarono il difenilacetato di piperazina ottenendo la guarigione, controllata mediante esami effettuati tra 10 e 30 giorni dalla fine del trattamento, in 33 su 34 casi potuti seguire completamente. La dose quotidiana del medicinale, nella misura di 75 mg/kg — dose aumentabile a gr. 0,1/kg nei casi ribelli —, fu somministrata, per metà in granuli glutinizzati e per metà in forma di supposte, divisa in due volte. Un trattamento di soli 2 gg risultò per lo più sufficiente ad assicurare la guarigione; altrimenti la cura fu rinnovata di 20 in 20 giorni, prolungando ogni volta il trattamento di un giorno. La tolleranza fu buona in tutti i 41 bambini trattati.

Standen (1953) confermò l'efficacia dell'idrato di piperazina sull'ossiuro del topo *Aspiculuris tetraptera*. White e Standen (1953) compararono l'azione su *E. vermicularis* di questa stessa sostanza con quella del violetto di genziana

(*) *Istituto Superiore di Sanità. Laboratorio di parassitologia, Roma.*
(**) *O. N. M. I., Latina.*

e del diphenan, giungendo alla conclusione che l'idrato di piperazina doveva essere considerato il medicamento di scelta alla dose di 50-75 mg/kg *pro die* per 7 gg seguiti da 7 gg di riposo ed altri 7 gg di cura; di 31 bambini infatti che furono trattati con più di 50 mg/kg *pro die*, come risultò da un rigoroso controllo effettuato sottoponendo i soggetti ad un prelievo quotidiano con il nastro di cellofan adesivo per 7 gg a partire dal 14° dalla fine della cura, ne fu completamente liberato dagli ossiuri il 97%. Deschiens, Poirier e Lamy (1954) ebbero eccellenti risultati trattando 9 bambini di 5-12 anni e 4 adulti, i primi con 0,1-0,2 gr. ed i secondi con 0,4 gr. di idrato di piperazina *pro die* per 8 gg. seguiti da una settimana di riposo ed altri 8 gg di trattamento; dai controlli effettuati risultò che l'assenza di femmine od uova del parassita perdurava almeno fino ad un mese dalla fine della cura. Bumbalo, Gustina e Oleksiak (1954), in prove comparative con altre sostanze, ebbero pure l'85% di esiti positivi su 47 bambini trattati con idrato di piperazina.

Hartley (1954) ha somministrato contro gli ossiuri adipato di piperazina; in dosi non superiori a 1,8 gr./kg *pro die* ha ottenuto guarigione completa dalla ossiuriasi in adulti ed in bambini con soli due giorni di trattamento; il prodotto è risultato inoltre privo di tossicità, sia acuta che cronica, anche alla dose di 7 gr/kg *pro die* in topi, ratti, cani ed altri animali. Uno studio accurato e completo su tale prodotto è stato fatto da Davies, Forrest, Hartley e Petrov (1954) per le proprietà fisico-chimiche e da Cross, David e Vallance (1954) per quelle tossicologiche e farmacologiche.

Circa il meccanismo di azione di tali derivati della piperazina, già Mouriquand, Roman e Coisnard (1951) avevano supposto che l'idrato di piperazina agisse specialmente sulle femmine gravide di *E. vermicularis*, e ciò in base al fatto che la ricerca dei vermi nelle feci dei soggetti trattati rivelò solo una bassa proporzione di giovani femmine e due soli maschi. Brown, Chan e Hussey (1954) saggiando l'azione di 32 composti della piperazina sull'ossiuro del topo *Syphacia obvelata*, oltre al fatto che il prodotto semplice ed i suoi sali appaiono generalmente più efficaci dei composti complessi, hanno confermato che gli stadi maturi del verme sono più facilmente vulnerabili di quelli immaturi.

In merito infine alla eventuale tossicità dei prodotti usati, va ricordato che White e Standen (1953) hanno studiato gli effetti dannosi rilevati in complessivi 14 adulti e 6 bambini trattati con idrato di piperazina; tali effetti dannosi, rari comunque in relazione al gran numero di soggetti trattati, consistevano in « stordimento, mancanza di coordinazione, ed anche, in qualche caso, malessere, incapacità di adattamento visivo ed uno stato di assenza »; essi furono però sempre leggeri e seguiti da rapido ristabilimento. I due AA. hanno attribuito i vari disturbi agli eccessi di dose provocati dalla diversità dei con-

tagoccie usati. Anche effetti tossici rilevò Sims (1953) in un paziente che prese per errore 6 gr. di piperazina al giorno invece di gr. 4,4 per una settimana, e cioè complessivamente almeno gr. 42 invece di 28. Gordonoff (1954) ha visto effetti tossici, talora mortali, in ratti trattati con 4-5 gr./Kg *pro die* di piperazina; i suoi dati sono stati però criticati da White e Standen (1954) che hanno osservato come le dosi da lui usate erano ben 60 volte quella terapeutica; e Mac Keith (1954), in relazione a tale polemica, dichiara di aver usato dosi doppie di quelle raccomandate senza verificare effetti dannosi.

* * *

Mancando finora nella letteratura italiana un contributo analogo a quelli ricordati, e nell'intento di portare ulteriori dati sull'azione verso *E. vermicularis* in particolare e su quella antiparassitaria in generale dell'idrato di piperazina, abbiamo ritenuto opportuno svolgere le ricerche di cui alla presente nota.

Materiale e tecnica

Le prove sono state effettuate in Latina su bambini da 2 a 12 anni, selezionati a mezzo del nastro di cellofan adesivo (metodo di Graham) e dell'esame delle feci nel corso di ricerche sul parassitismo intestinale nella popolazione infantile della Provincia che uno di noi (M. R.) va svolgendo.

I bambini esaminati provenivano: quelli di 2-3 anni dall'Asilo Nido della Casa della Madre e del Bambino O.N.M.I.; quelli di 4-5 anni dall'Asilo Comunale; quelli di 6-12 anni dalle Scuole Elementari di Piazza Dante.

E' stata costantemente usata una dose *pro die* di circa 60 mg/Kg, divisa in due o tre volte. Siamo partiti da una soluzione al 20% di idrato di piperazina in sciroppo di lampone (1) — formulazione risultata assai gradita ai bambini —; il necessario numero di goccie veniva diluito in mezzo bicchiere d'acqua. Per ovviare tuttavia alle complicazioni ed alla conseguente notevole perdita di tempo che il conteggio delle goccie importava, per il trattamento in classe dei soggetti delle scuole elementari abbiamo direttamente preparato diluizioni a diverso titolo tali da poter contenere la dose in un cucchiaio da tavola, agevolando in tal modo gli insegnanti incaricati della somministrazione; i cucchiai da tavola sono stati forniti da noi stessi, onde essere certi che avessero tutti la stessa capienza.

In una prima serie di prove, su bambini di 2-5 anni, sono stati usati i seguenti schemi di trattamento:

---

(1) Ringraziamo la Ditta Radiumfarm che ha cortesemente messo a nostra disposizione il notevole quantitativo di medicinale *(Paidox)* necessario per le nostre esperienze.

A — 21 gg consecutivi

B — 14 gg consecutivi

C — 7 gg consecutivi, 7 gg di riposo, altri 7 gg consecutivi.

In tutti i casi la dose *pro die* è stata divisa in tre volte; nei giorni di scuola una dose è stata somministrata nella scuola stessa alla refezione di mezzogiorno, e due, al mattino ed alla sera, a casa; nei giorni festivi tutte e tre le dosi a casa.

Il gruppo *A* è stato sottoposto a controllo quotidiano con il nastro di cellofan adesivo per tutta la durata della cura, e poi a 7 giorni e a 15 giorni dalla fine della cura stessa.

Il gruppo *B* alla fine della cura e 15 giorni dopo.

Il gruppo *C* alla fine della prima settimana di trattamento, a fine cura e 15 giorni dopo.

In una seconda serie di prove, su bambini di 6-12 anni, sono stati usati i soli schemi di trattamento *A* e *B;* i soggetti di ogni gruppo sono stati però divisi in due sottogruppi, uno dei quali ha ricevuto il medicinale sempre a casa secondo l'abituale prescrizione (ripartizione della dose *pro die* in tre volte da prendere prima dei pasti), mentre l'altro lo ha ricevuto solo a scuola dividendo la dose *pro die* in due parti che venivano somministrate all'ingresso ed all'uscita dei bambini dalla scuola, e cioè con un intervallo di circa 4 ore; naturalmente in questo secondo caso il trattamento non ha potuto essere continuo, in quanto si è dovuto necessariamente sospendere nei giorni di vacanza. I soggetti che hanno ricevuto il trattamento *A* sono stati sottoposti a controllo con il nastro di cellofan adesivo al 12° giorno di cura, alla fine di questa e 15 giorni dopo. Quelli con il trattamento *B* a fine cura e 15 giorni dopo.

Risultati

Abbiamo complessivamente trattato 175 bambini, per 161 dei quali ci è stato possibile effettuare tutti i necessari controlli. I risultati del trattamento di questi ultimi sono raccolti nella Tabella 1.

TABELLA 1

Tipo del trattamento	21 gg		14 gg		7 gg (7 gg riposo) 7 gg		totale	
Ripartizione dosi *pro die*	n° trattati	% guariti	n° trattati	% guariti	n° trattati	% guariti	n° trattati	% guariti
una a scuola . . . due a casa	6	100,00	14	71,43	14	71,43	34	76,47
tre a casa	32	84,38	39	76,97	—	—	71	80,28
due a scuola . . .	35	85,71	21	100,00	—	—	56	91,07
totale . . .	73	86,30	74	82,43	14	71,43	161	83,23

Un attento esame dei dati riportati in tale tabella permette però di rilevare tra i risultati del trattamento alcune discrepanze che fanno sorgere seri dubbi circa il valore conclusivo da attribuire ai risultati stessi. Tali, p. es., il diverso comportamento dell'attività del medicinale, almeno a giudicare dai valori percentuali, a seconda che esso sia stato somministrato solo a scuola, o solo a casa, o casa ed a scuola; o quello, altrettanto evidente dai valori percentuali, del comportamento presentato dai due gruppi trattati solo a scuola, da cui addirittura apparrebbe una minore efficacia del medicinale con un più lungo trattamento.

Siamo stati pertanto indotti a compiere una inchiesta particolare per ogni caso di insuccesso della cura, interpellando coloro che avevano l'incarico della somministrazione del medicinale; inchiesta che ha avuto il più lusinghiero risultato in quanto ha permesso di appurare che, in effetti, nella grande maggioranza dei casi ad esito negativo del trattamento si era verificata una qualche irregolarità nelle modalità del trattamento stesso: trattamenti interrotti per trascuratezza dopo alcuni giorni di cura, somministrazione piuttosto salvaria del medicamento e pertanto per una dose totale assai minore di quella prescritta, somministrazione regolare ma con riduzione sensibile della dose; quest'ultimo fu p. es. il caso di una delle classi trattate a scuola — classe che in effetti deteneva la totalità degli esiti negativi del suo gruppo — in cui appunto l'insegnante nella tema di eventuali danni per i suoi alunni aveva ritenuto opportuno operare di sua iniziativa quasi un dimezzamento della dose da noi prescritta.

Abbiamo pertanto ritenuto doveroso, ai fini di una giusta valutazione della reale attività antiossiurasica dell'idrato di piperazina, di eliminare dal computo tutti i casi accertati di irregolare somministrazione del medicinale; ciò ha portato a modificare i dati della Tabella 1 come esposto nella Tabella 2.

TABELLA 2

Tipo del trattamento	21 gg		14 gg		7 gg (7 gg riposo) 7 gg		totale	
Ripartizione dosi *pro die*	n° trattati	% guariti	n° trattati	% guariti	n° trattati	% guariti	n° trattati	% guariti
una a scuola . . . due a casa	6	100,00	11	90,91	12	83,33	29	89,66
tre a casa	28	96,43	31	96,77	—	—	59	96,61
due a scuola . . .	31	96,77	21	100,00	—	—	52	98,08
totale . . .	65	96,92	63	96,83	12	83,33	140	95,71

Tali risultati permettono di concludere:

1) che l'idrato di piperazina deve essere effettivamente considerato un efficacissimo antiossiurasico;

2) che, alla dose di 60 mg/Kg *pro die*, è praticamente sufficiente un trattamento di 14 gg; sembrerebbe inoltre più opportuna una somministrazione continuata del medicamento che non la ripartizione in due cicli di 7 gg intervallati da una settimana di sospensione; di nessun effetto appare invece l'eventuale sospensione del trattamento per un giorno ogni tanto;

3) che la somministrazione in due volte invece che in tre della dose *pro die*, e a relativamente breve distanza di tempo, non incide sulla efficacia del medicamento ed è perfettamente tollerata, come del resto tutte le altre forme di trattamento da noi sperimentate.

Allo scopo di contribuire alla interpretazione dell'attività dell'idrato di piperazina verso *E. vermicularis* riteniamo utile riportare i seguenti dati relativi ai vari controlli da noi effettuati, oltre quello ultimo a 15 gg dalla fine del trattamento, sui soggetti classificati guariti:

— trattamento *A*: *a*) nei 6 soggetti controllati quotidianamente si è avuto:

1 - positività al 2° e al 4° g. di trattamento, poi sempre negatività;
2 - » » 2° e al 5° » » » » ;
3 - » » 2°, al 4° e al 6° » » » » ;
4 - » » 2°, al 3°, al 12° e al 13° » » » » ;
5 - » » 3°, al 13° e al 14° » » » » ;
6 - » » 4° e al 5° » » » » .

b) nei 31 soggetti controllati a metà ed a fine cura: al primo esame, al 12° giorno dall'inizio del trattamento (corrispondente al 10° ed al 12° di cura a seconda che il medicinale fosse somministrato a scuola od a casa), 10 soggetti positivi; al secondo esame tutti negativi.

— trattamento B): 61 soggetti controllati a fine cura, tutti negativi.

— trattamento C): nel controllo a fine del primo ciclo di 7 gg di cura si sono avuti 2 soggetti positivi su 10; al controllo a fine cura, tutti negativi.

I 6 soggetti nei quali la cura è stata inefficace hanno invece dimostrato positività a tutti i controlli effettuati.

Da tali dati sembra emergere che l'idrato di piperazina svolge nella maggior parte dei casi un'azione abbastanza rapida sugli ossiuri, ma che ci sono però anche altri casi in cui quest'azione appare svolgersi più lentamente. Ciò potrebbe anche costituire, a nostro parere, una indiretta conferma dell'asserita prevalente azione del medicamento sulle femmine adulte del parassita; e giustifica, in ogni caso, il prolungamento della cura per un minimo di 14 gg.

* * *

Poichè disponevamo dei dati del completo esame parassitologico delle feci di tutti i soggetti trattati, abbiamo voluto controllare anche l'eventuale azione dell'idrato di piperazina sulle altre parassitosi intestinali. A tal fine, in aggiunta al controllo finale con il nastro di cellofan adesivo, è stato effettuato l'esame parassitologico delle feci, a parte dei soggetti completo ed a parte limitandolo alla sola ricerca delle uova di elminti. I risultati di tale indagine sono esposti nella Tabella 3.

TABELLA 3

Specie del parassita	n° dei soggetti controllati	n° dei soggetti parassitati	
		prima del trattamento	dopo il trattamento
Entamoeba coli	32	3	3
Jodamoeba bütschlii . . .	»	1	—
Giardia intestinalis . . .	»	11	13
Hymenolepis nana . . .	140	12	13
Ascaris lumbricoides . . .	»	4	—
Trichuris trichiura . . .	»	38	39

Tali dati consentono di affermare che l'idrato di piperazina non esercita alcuna azione nei confronti dei vari protozoi intestinali, nè, tra gli elminti, verso *H. nana* e *T. trichiura*, mentre confermano, pur nella bassa casistica, l'efficacissima azione svolta dalla droga, e senza alcuna necessità di consecutiva somministrazione di purgante, verso *A. lumbricoides*. Ricordiamo che la mancata azione dei diversi derivati della piperazina su *T. trichiura* era già stata osservata da Mouriquand, Roman e Coisnard (1951), da Turpin, Cavier e Savaton-Pillet (1952), da White (1954); mentre la grande attività degli stessi nei confronti di *A. lumbricoides* è un fatto ormai accertato dalle osservazioni e dalle specifiche ricerche svolte da numerosi AA. (Fayard, 1949; Mouriquand, Roman e Coisnard, 1951; Basnuevo, Labourdette, Borges e Garcia Faes, 1953); Basnuevo e Fontao, 1954; White, 1954; Brown, 1954; O'Brien, 1954; Goodwin e Standen, 1954; Brown e Sterman, 1954).

Ringraziamenti: — Desideriamo rivolgere i nostri vivi ringraziamenti a tutti coloro che ci hanno in qualche modo agevolati nella esecuzione del nostro lavoro: al Dott. M. Alessandrini, Direttore, ed al personale tutto del Comitato Provinciale Antimalarico di Latina; al Dott. V. Tasciotti, Direttore, al Dott. G. Stefancich, Medico scolastico, ed agli Insegnanti del Primo Circolo Didattico di Latina; al personale dell'Asilo Nido dell'O.N.M.I. di Latina; alle Religiose dell'Asilo Infantile Comunale di Latina.

RIASSUNTO

175 bambini di 2 - 12 anni di età parassitati da *E. vermicularis* sono stati trattati con circa 60 mg/kg *pro die* di idrato di piperazina per 21 giorni consecutivi, o per 14 giorni consecutivi, o per 14 giorni in due cicli di 7 intramezzati da 7 giorni di riposo. La dose *pro die* è stata somministrata, divisa in due o tre volte, a parte dei soggetti solo a casa, a parte solo a scuola ed a parte a casa ed a scuola.

Dei 140 soggetti in cui si è potuta accertare una regolare somministrazione del medicamento, e di cui è stato possibile effettuare tutti i necessari controlli, ne è risultato guarito il 95,71%. Il trattamento per 14 giorni consecutivi si è dimostrato altrettanto efficace (96,83%) di quello per 21 giorni (96,92%), e migliore invece di quello per 14 giorni in due cicli di 7 con intervallo (83,33%).

Non si è verificata alcuna azione dell'idrato di piperazina su *E. coli*, *J. bütschlii*, *G. intestinalis*, *H. nana* e *T. trichiura*. 4 casi di ascaridiosi sono invece stati tutti guariti.

In nessun caso sono stati notati effetti tossici.

SUMMARY

175 children of 2-12 years of age, parasitized by *E. vermicularis*, have been treated with mg/kg *pro die* of piperazine hydrate during 21 consecutive days, or during 14 consecutive days, or during 14 days consisting of 7 days' treatment, 7 days' rest, followed by another 7 days of therapy. The *pro die* dose has been administered in two or three times to three groups of children: at home, at school, and partly at home and partly at school.

The 95% of 140 subjects, to whom the drug had been regularly administered and who had been kept under careful observation, showed to be completely cured. The treatment, lasting 14 consecutive days, appeared to be as reliable (96,83% of cured cases) as the one lasting 21 days (96,92%) but more efficient than the one lasting 14 days divided into 2 cycles (83,33%).

No action was shown by piperazine hydrate on *E. coli*, *J. bütschlii*, *G. intestinalis*, *H. nana* and *T. trichiura*. However, 4 cases of ascaridiasis recovered completely. In no case were observed toxic effects.

BIBLIOGRAFIA

Basnuevo J. G. e Fontao J. (1954): Ascariasis y dietilendiamina (piperacina) *Rev. Cuba de Lab. Clin.*, *8*, 19-21.

Basnuevo J. G., Labourdette J. M., Borges F. e Garcia Faes O. (1953): Veinte casos de ascariasis tratados con dietilendiamina. *Rev. Kuba de Med. Trop. y Parasit.*, *9*, 43-44.

Brown H. W. (1954): The treatment of *Ascaris lumbricoides* infection with piperazine. *J. Pediatrics*, *45*, 419-424.

Brown H. W., Chan K. F. e Hussey K. L. (1954): The efficacy of piperazine compounds against *Syphacia obvelata*, a pinworm of mice. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.*, *3*, 504-510.

Brown H. W. e Sterman M. M. (1954): Treatment of *Ascaris lumbricoides* infections with piperazine citrate. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.*, *3*, 750-754.

Bumbalo T. S., Gustina F. J. e Oleksiak R. E. (1954): The treatment of pinworm infection (Enterobiasis). A comparative study of three oxyuricides. *J. Pediatrics*, *44*, 386-391.

Cross B. G., David A. e Vallace D. K. (1954): Piperazine adipate: a new anthelmintic agent. Part. II Toxicological and pharmacological studies. *J. Pharm. & Pharmacol.*, *6*, 711-717.

Davies M. T., Forrest J., Hartley F. e Petrow V. (1954): Piperazine adipate: a new anthelmintic agent. Part. I. Physicochemical properties. *J. Pharm & Pharmacol.*, *6*, 707-710.

Deschiens R., Poirier M. e Lamy L. (1954): Sur l'action anthelminthique des dérivés de l'éthylène-diamine et de la pipérazine. *Bull. Soc. Path. Exot.*, *47*, 83-86.

Fayard C. (1949): Ascaridiose et piperazine. *Thèse de Doctorat en Médicine, Paris.* (*pro fide*: Mouriquand e coll.).

Goodwin L. G. e Standen O. D. (1954): Treatment of roundworm with piperazine citrate (« Antepar »). *Brit. Med. J.*, *2*, 1332-1333.

Gordonoff T. (1954): Piperazine in the treatment of threadworms. *Brit. Med. J.*, *1*, 394.

Hartley F. (1954): Piperazine in the treatment of threadworms. *Brit. Med. J.*, *1*, 521.

Mac Keith R. (1954): Piperazine in the treatment of threadwomrs. *Brit. Med. J.*, *1*, 521.

Mouriquand G., Roman E. e Coisnard J. (1951): Essai de traitement de l'oxyurose par la pipérazine. *Journ. de Méd. de Lyon*, *32*, 189-195.

O' Brien D. P. (1954): Piperazine adipate in the treatment of roundworms. *Brit. Med. J.*, *2*, 246.

Sims S. R. (1954): Piperazine in the treatment of threadwomrs. *Brit. Med. J.*, *2*, 1432.

Standen O. D. (1954): Experimental chemotherapy of oxyuriasis. *Brit. Med. J.*, *2*, 757-758.

TURPIN R., CAVIER R. e SAVATON-PILLET J. (1952): Traitement de l'oxyurose par le diphénylacétate de pipérazine (D.P.P.). *Thérapie*, *7*, 108-113.

WHITE R. H. R. (1954): Ascariasis treated with piperazine hydrate. *Lancet*, *2*, 315-316.

WHITE R. H. R. e STANDEN O. D. (1953): Piperazine in the treatment of threadworms in children. Report on a clinical trial. *Brit. Med. J.*, *2*, 755-757.

WHITE R. H. R. e STANDEN O. D. (1953): Piperazine in the treatment of threadworms. *Brit. Med. J.*, *2*, 1272-1273.

WHITE R. H. R. e STANDEN O. D. (1954): Piperazine in the treatment of threadworms. *Brit. Med. J.*, *1*, 460.